ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2004 - Thèse n° 8....

PRÉVALENCE ET INCIDENCE DE L'INFECTION À *MYCOPLASMA BOVIS* EN PATHOLOGIE RESPIRATOIRE DU VEAU À L'ENGRAISSEMENT.

BILAN D'UNE ÉTUDE DE TERRAIN

THESE

Présentée à L'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON 1
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 21/01/2004
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Antoine FICHOT
Né le 18 novembre 1979
A ST VALLIER

DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Professeur J.-F. CHARY

Le 01 Septembre 2003

DEPARTEMENT	PREX	PR1	PR2	MC	Contractuel, Associé & IPAC	AERC	Chargés de consult et d'enseignement
DEPART SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE							
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale		Y. RICHARD		V. GUERIN-FAUBLEE 80 % A. KODJO D. GREZEL 80 %			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie & Maladies parasitaires		C. CHAUVE	G. BOURDOISEAU	MP CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTEGRELET	P. DEMONT C. VERNOZY	S. COLARDELLE A. GONTHIER			
Législation & Jurisprudence			A. LACHERETZ				
Bio-Mathématiques				P. SABATIER M.L. DELIGNETTE 80 % K. CHALVET-MONFRAY			
DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA	R. DA ROCHA CARARO MC		
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY		S. JUNOT MCC	C. CAROZZO	G. CHANOIT A. MUGUET J. GUILLAUMIN C. DECOSNE JUNOT (50%) K PORTIER
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie		J.P. MAGNOL		T. MARCHAL	D. WATRELOT-VIRIEUX MCC F. BELLI MCA D. PIN MCA		
Médecine interne		C. FOURNEL	J.L. CADORE	L. CHABANNE	M. HUGONNARD	F. PONCE C. ESCRIOU	I. BUBLOT (60 %)
Imagerie médicale				P. BARTHEZ			
DEPART DES PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootechnie, Ethologie & Economie rurale		M. FRANCK		LETERME P.	A.DERNBURG MCC	L. MOUNIER	
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGRON-MORAND			
Biol & Patho de la Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN	S. BUFF P. GUERIN			
Patho Animaux de Production		P. BEZILLE	T. ALOGNINOUWA	S. MARTINOT R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND	D. LAURENT (50 %) MCA		N.GIRAUD P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPART SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie /thérapeutique		R. BOIVIN		J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN 90 %			
Biophysique /Biochimie Génétique et Biologie moléculaire		F. GARNIER	E. BENOIT F. GRAIN P. JAUSSAUD P. BERNY	T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Pharmacie / Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK					
Langues					C. FARMER IPAC R. SULLIVAN IPAC		
DEPART HIPPIQUE							
Pathologie équine Clinique équine		O.LEPAGE	J.L.CADORE	A. LEBLOND A. BENAMOU-SMITH E. CAUVIN			
Expertise nécropsique			C.FLEURY				

Remerciements

A Monsieur le Professeur André Morin,
Professeur à la faculté de Médecine de Lyon,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter la Présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Mademoiselle Dominique Le Grand,
Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui nous a proposé ce travail et conseillé tout au long de sa réalisation,
Pour sa gentillesse et sa disponibilité,
Avec toute notre reconnaissance.

Sincères remerciements.

A Madame Véronique Guérin,
Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Jocelyne,

A Benjamin et Mireille,

A la mémoire de Jacques,

A Jean François, pour m'avoir supporté et fait naître ma vocation,

A Caroline,

A tous mes parents et amis,

Merci.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES 1

INDEX DES ILLUSTRATIONS 5

INDEX DES TABLEAUX 6

INTRODUCTION 7

PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I. PATHOLOGIE RESPIRATOIRE EN ÉLEVAGE INTENSIF : ETUDE GENERALE DU COMPLEXE DES BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES ENZOOTIQUES 9

A. EPIDÉMIOLOGIE DES B.P.I.E. 9

1. Epidémiologie descriptive 9

a) Population atteinte 9

b) Morbidité et mortalité 9

c) Importance médicale et économique des B.P.I.E. 9

(1) Importance médicale 9

(2) Importance économique 10

2. Epidémiologie analytique 12

a) Les facteurs prédisposants 12

(1) La réceptivité des veaux 12

(a)Leurs prédispositions anatomiques 12

(b)Leurs prédispositions physiologiques 12

b) Les facteurs favorisants 13

(1) Les facteurs d'ambiance modifiant la résistance de l'appareil respiratoire 13

(a)Les variations thermiques 13

(b)Les variations hygrométriques 13

(c)L'augmentation de la pollution chimique et physique de l'air ambiant 13

(2) Les facteurs augmentant les risques de contamination 13

(a)Augmentation de la pollution biologique de l'air ambiant 13

(b)Origines des animaux, surpopulation, confinement, transport 14

c) Les facteurs déterminants 14

(1) Les agents infectieux primaires ou initiateurs 14

(a)Les virus 14

(i) Virus respiratoire syncitial bovin 14

(ii)Virus parainfluenza 3 14

(iii)Herpèsvirus bovin de type 1 14

(iv)Adenovirus 14

(v)Virus de la diarrhée virale bovine 14

(vi)Rhinovirus 14

(b)Les mycoplasmes 14

(2) Les agents infectieux secondaires ou de complication 15

(a)Les chlamydies 15

(b)Les bactéries 15

(i) Pasteurelles 15

(ii)Actinomyces pyogenes, Escherichia coli, Salmonella sp. 16

II. ETUDE SPÉCIALE : ÉPIDÉMIOLOGIE CLINIQUE, DIAGNOSTIC ET PROPHYLAXIE DES AFFECTIONS À *M. BOVIS* **17**

A. ÉPIDÉMIOLOGIE 18
1. Descriptive *18*
2. Analytique *19*
a) Source 19
b) Survie de *M. bovis* dans le milieu extérieur 19
c) Transmission 19
d) Voies de pénétration 20
e) Facteurs de risque 20
B. MÉCANISMES DU POUVOIR PATHOGÈNE 20
1. Propriétés antiphagocytaires *20*
2. Propriétés invasives *20*
3. Propriétés d'adhésion *21*
4. La variabilité antigénique *21*
5. Effets délétères sur l'hôte *21*
C. SYMPTÔMES ET LÉSIONS 22
1. Affections respiratoires : Broncho-pneumonies *22*
2. Formes articulaires *22*
3. Synergie avec d'autres agents pathogènes *22*
D. DIAGNOSTIC EXPÉRIMENTAL 23
1. Types de prélèvements *23*
a) Animal vivant 23
b) Animal mort 23
2. Diagnostic direct *23*
a) Isolement 23
b) Identification 24
(1) Approche classique 24
(2) Recherche d'antigènes directement sur les prélèvements 24
(3) Diagnostic génétique 24
3. Diagnostic indirect (diagnostic sérologique) *24*
E. PROPHYLAXIE DES MYCOPLASMOSES 25
1. Médicale *25*
2. Sanitaire *25*

DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE. ÉVALUATION DE LA PRÉVALENCE ET DE L'INCIDENCE DE L'INFECTION À *MYCOPLASMA BOVIS* DANS DIX LOTS D'ENGRAISSEMENT DE VEAUX DE BOUCHERIE.

I. INTRODUCTION 27

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE 27

A. POPULATION CIBLE ET ÉCHANTILLONNAGE 27
B. LOCAUX D'ÉLEVAGE ET ALIMENTATION 27
C. TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENTS 33
1. Le Lavage Broncho-Alvéolaire par voie naso-trachéale 33
a) Matériel 33
b) Mode opératoire 34
(1) Contention 34
(2) Lavage broncho-alvéolaire 34
2. Prises de sang 42
D. TRAITEMENT DES PRÉLÈVEMENTS 42
1. Bactériologie générale 42
2. Bactériologie spéciale 44
3. Analyses sérologiques : recherche des anticorps anti-M.bovis 44
4. Analyses sérologiques : recherche des anticorps viraux RSV, Pi3 et BVD 45
E. ANALYSES STATISTIQUES 45
F. CONDUITE DE L'ÉTUDE 45
1. Définitions 45
2. Principe 45
3. Résumé du protocole 46

III. RÉSULTATS 47

A. BACTÉRIOLOGIE SUR LES LAVAGES BRONCHO-ALVÉOLAIRES 47
1. Bactériologie générale 47
a) Proportion des différentes espèces isolées selon les lots 47
b) Proportion des différentes espèces sur l'ensemble des lots 50
2. Bactériologie spéciale 51
B. RÉSULTATS DES ANALYSES SÉROLOGIQUES 53
1. Sérologies M. bovis 53
a) Statut des animaux à l'entrée 53
b) Analyse de PS2 et PS3 et pourcentage de séroconversions 53
2. Sérologies virales (RSV, Pi3 et BVD) 57

IV. DISCUSSION 58

A. LA TECHNIQUE DU LBA 58
1. Rendement technique 58
2. Eventualité d'une contamination 58
3. Recommandations 59
B. RÉSULTATS DE L'ÉTUDE 60
1. Analyses bactériologiques 60
a) bactériologie générale 60
b) bactériologie spéciale 60
2. Analyses sérologiques 61

a) Sérologie *M. bovis* 61
b) Sérologies virales 62

CONCLUSION **63**

BIBLIOGRAPHIE **64**

ANNEXES **69**

ANNEXE 1 : EXEMPLE DE COMPOSITION D'UN MILIEU UTILISÉ POUR L'ISOLEMENT DE *MYCOPLASMA BOVIS* 69
ANNEXE 2 : PROTOCOLE DE RÉALISATION DU TEST MF DOT 70
ANNEXE 3 : MODE D'EMPLOI DU TEST *M. BOVIS* SERO BOMMELI 72
ANNEXE 4 : TABLEAUX RÉCAPITULATIFS DES RÉSULTATS BACTÉRIOLOGIQUES ET SÉROLOGIQUES SELON LES LOTS. 76
ANNEXE 5 : TABLEAUX DE SYNTHÈSE DE LA BACTÉRIOLOGIE GÉNÉRALE 81
ANNEXE 6 : NOMBRE D'ANIMAUX SÉROPOSITIFS, DOUTEUX ET SÉRONÉGATIFS À PS1, PS2 ET PS3 82
ANNEXE 7 : POURCENTAGE D'ANIMAUX PRÉSENTANT UNE SÉROCONVERSION VIS À VIS DE *M. BOVIS* ENTRE PS2 ET PS3 ET ENTRE PS1 ET PS3 83
ANNEXE 8 : TABLEAU RÉCAPITULATIF DE LA BACTÉRIOLOGIE SPÉCIFIQUE ET DE LA SÉROLOGIE *M.BOVIS* 84
ANNEXE 9 : SÉROCONVERSIONS VIRALES 85

INDEX DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Evolution de la fréquence d'isolement de *M.haemolytica* et *P.multocida* de 1980 à 2000. 16
Figure 2 : Durée de conservation de *M.bovis* à 20°C sur plusieurs supports 19
Figure 3 : Plan type des bâtiments d'élevage 28
Figure 4 : Principe de la ventilation passive 28
Figure 5 : Extraction d'air par ventilation 29
Figure 6 : Aire paillée, veaux regroupés dans l'aire de contention, évents d'aération ouverts 30
Figure 7 : Veaux sur l'aire paillée 30
Figure 8 : Préparation de l'aliment par la mélangeuse. 31
Figure 9 : Veaux regroupés autour de la louve 31
Figure 10 : Veaux à la tétée 32
Figure 11 : Conditionnement des prélèvements pour l'acheminement au laboratoire 33
Figure 12 : Nettoyage de l'orifice nasal 35
Figure 13 : Introduction de la sonde 36
Figure 14 : Sonde maintenue dans l'orifice nasal 37
Figure 15 : Passage dans la trachée 38
Figure 16 : Injection du sérum physiologique 39
Figure 17 : Aspiration immédiate du liquide injecté. 40
Figure 18 : Aspect correct du liquide de prélèvement 41
Figure 19 : Pot identifié par une étiquette et contenant le prélèvement 41
Figure 20 : Traitement des prélèvements pour la bactériologie générale 42
Figure 21 : Procédure pour l'isolement des Mycoplasmes en milieu liquide 44
Figure 22 : Résumé du protocole 46
Figure 23 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 1 47
Figure 24 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 2 47
Figure 25 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 3 48
Figure 26 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 4 48
Figure 27 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 5 48
Figure 28 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 6 48
Figure 29 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 7 49
Figure 30 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 8 49
Figure 31 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 9 49
Figure 32 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 10 49
Figure 33 : Répartition des différentes espèces bactériennes pour l'ensemble des lots 50
Figure 34 : Fréquences d'isolement de *M. bovis, M. arginini et M.bovirhinis* selon les lots 51
Figure 35 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs, douteux et séronégatifs à JO 53
Figure 36 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs, douteux et séronégatifs à JDM 54
Figure 37 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs, douteux et séronégatifs 30 à 40 jours après JDM 54
Figure 38 : Pourcentage d'animaux faisant une séroconversion selon les lots. (lot 10 non testé) 55
Figure 39 : Pourcentage de séroconversion des différents agents infectieux selon les lots. 57

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Coût des traitements vétérinaires (par 100 veaux dans le troupeau) 10

Tableau 2 : Coût des honoraires du vétérinaire 11

Tableau 3 : Coût estimé de la diminution des performances, en supposant que les trente veaux atteints manifestent une baisse de performance 11

Tableau 4 : Taxonomie des Mollicutes 17

Tableau 5 : Identification bactérienne 43

Tableau 6 : Comptage des individus malades ou sains sachant qu'ils sont porteurs de *M.bovis* 52

Tableau 7 : Tableau de contingence et test du khi 2 pour les caractères "portage de *M.bovis*" et "maladie" 52

Tableau 8 : Pourcentage de séroconversion des veaux positifs à la bactériologie 55

Tableau 9 : Comparaison, par lot, du taux de séroconversion et du pourcentage d'animaux faisant une hyperthermie 56

Tableau 10 : Tableau de contingence et test du khi 2 pour les caractères "séroconversion" et "hyperthermie" 56

INTRODUCTION

Chez les veaux non sevrés, les infections respiratoires provoquent souvent des retards de croissance et une mortalité élevée au cours des quatre premiers mois de la vie. Elles peuvent aller d'une maladie infra-clinique à une pneumonie foudroyante.

Le terme de « broncho-pneumonie infectieuse enzootique » (BPIE) est utilisé pour définir ce complexe de pathologies respiratoires. Il définit bien l'affection : « broncho-pneumonie », car touchant les voies respiratoires et le parenchyme pulmonaire, « infectieuse », car causée par des bactéries, des virus et des mycoplasmes, et « enzootique » car la morbidité est souvent importante au sein d'un même troupeau. Ce terme ne fait cependant pas ressortir l'importance des facteurs liés à l'environnement tels que le stress du transport et de l'allotement, l'habitat, l'alimentation et les conditions climatiques dont le rôle est primordial dans l'apparition de la maladie (10).

Les broncho-pneumonies infectieuses enzootiques représentent aujourd'hui la pathologie majeure des élevages intensifs de jeunes bovins dans le monde entier (6). L'incidence de ces infections s'est effectivement accrue avec le développement de modes de production intensifs (13).

Chez ces animaux, la pathologie de groupe a attiré l'attention avec l'intensification de l'élevage dans les années 50, regroupant en unités des lots importants de sujets de la même espèce, du même âge, et pour une spéculation unique (10). Le mode d'élevage est donc primordial. On verra que certains types de production, notamment les ateliers d'engraissement de veaux de boucherie, regroupent tous les facteurs prédisposant à une pathologie respiratoire de groupe. Dans ce type d'élevage industriel, les marges sont relativement faibles et la rentabilité est basée sur le grand nombre d'animaux ; les conséquences économiques des pathologies respiratoires sont donc très importantes.

La première partie de notre travail détaillera tout d'abord les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des BPIE. Puis nous aborderons la nature et l'influence des différents agents pathogènes impliqués et des divers facteurs prédisposants, pour terminer par l'étude spécifique de *Mycoplasma (M.) bovis*.

La seconde partie de ce travail présentera une étude de terrain dont l'objectif était d'évaluer la prévalence et l'incidence des mycoplasmoses à *M. bovis* chez des veaux non sevrés à l'engraissement.

PREMIERE PARTIE :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. PATHOLOGIE RESPIRATOIRE EN ELEVAGE INTENSIF : ETUDE GENERALE DU COMPLEXE DES BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES ENZOOTIQUES

A. Epidémiologie des B.P.I.E.

1. Epidémiologie descriptive

a) Population atteinte

Les B.P.I.E. sévissent d'une part dans les rassemblements de jeunes bovins (6 mois - 1 an), quelques jours après leur arrivée (c'est la « shipping fever » ou fièvre des transports décrite par les anglo-saxons), mais frappent également d'autre part les veaux à sevrer et les veaux regroupés en lots pour l'engraissement.

En élevage allaitant, les veaux représentent la cible des infections respiratoires à deux périodes de leur vie : dans les semaines qui suivent leur naissance et après le sevrage qui correspond souvent à un retour en stabulation après la période de pâturage (31).

Les jeunes veaux des troupeaux laitiers sont également touchés (« dairy calf enzootic pneumonia » en Amérique du Nord) . Les adultes n'échappent pas aux broncho-pneumonies, même si l'épidémiologie est différente ; il existe en particulier des pasteurelloses respiratoires sporadiques des animaux ayant subi un transport ou un refroidissement (11). Mais l'on rencontre aussi, beaucoup moins fréquemment, des épizooties de pasteurelloses graves chez les adultes (18).

b) Morbidité et mortalité

Le schéma épidémiologique varie énormément dans la morbidité et la mortalité.

Un travail de recherche récent effectué à l'Université de Reading sur la base des données de DAISY (Dairy Information System) montrait qu'au moins 7% de la mortalité chez les jeunes veaux était due à des maladies respiratoires (13).

La pneumonie est le symptôme le plus fréquemment constaté dans les ateliers d'engraissement de veaux (48,3%) avec plus de la moitié des cas survenant entre 1 et 3 semaines après l'achat (13).

La morbidité varie de 7 à 39 % suivant les régions et selon les auteurs.

c) Importance médicale et économique des B.P.I.E.

(1) Importance médicale

L'immunité dirigée contre les agents infectieux et l'efficacité des programmes de vaccination sont limitées. La contagion importante et la mortalité fréquente en font donc une maladie particulièrement redoutée. L'atteinte de l'appareil respiratoire invalide l'animal pendant la maladie, et celui-ci peut présenter des séquelles après sa guérison. Il peut également y avoir passage à la chronicité.

(2) Importance économique

Les pathologies respiratoires du veau ont des répercussions majeures sur le plan économique. Les traitements antibiotiques sont coûteux, les animaux convalescents ou malades ont habituellement un plus faible taux de croissance (13). La mortalité importante est une perte conséquente pour l'éleveur qui perd à la fois la valeur de son animal et le coût des investissements.

A ces coûts il convient de rajouter aussi l'investissement en temps de l'exploitant (temps de traitement, manipulation).

Tableau 1 : Coût des traitements vétérinaires (par 100 veaux dans le troupeau) (13) données de 1997.

	Unités	Coût (euro)
Uniquement les veaux atteints		
Nombre de veaux atteints	30	
Nombre de traitements par veau	2	
Coût par traitement		13.12
Coût par veau traité		26.24
Coût du traitement des veaux atteints (a)		787.2
Tous les veaux		
Coût par traitement		8.2
Nombre de traitement par veau	1	
Coût du traitement par veau		8.2
Nombre de veaux non atteints	70	
Coût du traitement des veaux non atteints (b)		574
Coût du traitement de tous les veaux (a+b)		1361.2

Tableau 2 : Coût des honoraires du vétérinaire (13)

	Unités	Coût (euro)
Honoraires de déplacement		32.8
Nombre de visites	2	
Coût des déplacements (a)		65.6
Honoraires du vétérinaire (heure)	4	
Coût par heure		106.6
Coût du temps passé à soigner les animaux malades (b)		426.4
Coût total des visites (a+b)		492

Tableau 3 : Coût estimé de la diminution des performances, en supposant que les trente veaux atteints manifestent une baisse de performance (13)

	Cas typique
Réduction du gain pondéral (kg/j)	0,15
Durée de l'effet (j)	100
Perte en poids (kg)	15
Retard à l'âge de la première saillie ou insémination (j)	21
Coût par jour supplémentaire (euro)	2.706
Coût de jour supplémentaire (euro)	1705.6
Pertes liées à la vente forcée par animal (euro)	164
Nombre de ventes forcées	7
Coût des ventes forcées (euro)	1148
Nombre de morts	5
Coût d'un veau mort (euro)	164
Coût des veaux morts (c) (euro)	820
Coût total des pertes de rendement	2240

2. Epidémiologie analytique

Dans le cas des broncho-pneumonies infectieuses enzootiques, comme dans celui des autres maladies multifactorielles, on ne peut pas incriminer qu'un seul agent causal ou qu'une seule erreur d'élevage, mais plutôt une triade de facteurs dus aux veaux, à l'environnement et aux agents infectieux. Les B.P.I.E. émergent dès que sont réunis les différents facteurs permettant l'expression du pouvoir pathogène des différents agents étiologiques impliqués dans le syndrome (11).

a) Les facteurs prédisposants

(1) La réceptivité des veaux

Les bovins sont des insuffisants respiratoires physiologiques (9) de par :

(a) Leurs prédispositions anatomiques

Ils présentent :

- Une étroitesse de la trachée (diamètre inférieur d'un tiers à celui de la trachée du cheval).
- Des septa interlobulaires conjonctifs épais et une absence de communication inter alvéolaire.
- Des vaisseaux capillaires alvéolaires moins nombreux que dans les autres espèces.
- Une situation particulièrement précaire des lobes antéro-inférieurs mal ventilés et en position déclive, ce qui les prédispose à la congestion passive. La pression en oxygène (PO2) étant plus basse chez les bovins que chez les autres espèces cela entraîne une réduction de la phagocytose et de la clearance pulmonaire.

(b) Leurs prédispositions physiologiques

Elles sont les suivantes :

- La maturité fonctionnelle du système respiratoire n'est pas atteinte avant l'âge d'un an dans l'espèce bovine (25).
- La respiration est profonde pour maintenir une PO2 suffisante d'où une augmentation du risque d'inhalation de particules.
- Les bovins sont prédisposés à l'acidose métabolique d'où une diminution de la clearance pulmonaire et de la phagocytose.
- Leur sensibilité particulière à l'histamine et à la sérotonine entraîne : une intensification de la bronchoconstriction qui engendre une diminution de PO2 ; une augmentation de la perméabilité vasculaire d'où une exsudation du fibrinogène, très abondant chez les bovins.
- Les macrophages alvéolaires sont moins nombreux que dans les autres espèces (9).
- La rusticité fonctionnelle du système respiratoire est la capacité de ce dernier à assurer des échanges gazeux suffisants dans les conditions de stress et de maladies normalement rencontrées dans un type de production donné. Elle nécessite la présence d'une importante réserve ventilatoire dont l'utilisation dans des circonstances non physiologiques mais non exceptionnelles permet d'éviter l'instauration de perturbations, parfois fatales, des échanges gazeux. Cette réserve ventilatoire semble être insuffisante chez les bovins à viande, qui sont donc plus susceptibles d'être atteints par des troubles respiratoires.

b) Les facteurs favorisants

(1) Les facteurs d'ambiance modifiant la résistance de l'appareil respiratoire

(a) Les variations thermiques

Les veaux ont naturellement une mauvaise thermorégulation. Il leur est difficile de maintenir leur température corporelle par temps froid, ce qui leur demande une dépense énergétique importante. Par temps chaud, le veau transpire plus qu'un adulte, ce qui contribue à le déshydrater. La déshydratation peut conduire à des dégâts de la couche muqueuse des voies respiratoires supérieures ou à une augmentation de la viscosité des sécrétions respiratoires.

(b) Les variations hygrométriques

L'humidité augmente la difficulté du veau à maintenir sa température. L'humidité de l'air est un facteur important limitant la survie des pathogènes. Cinquante-cinq à 75% d'humidité relative est le seuil optimum pour limiter le temps de survie des agents pathogènes. Un courant d'air frais dirigé des veaux vers les adultes limite l'humidité et la concentration en gaz nocifs et en microbes. Un air trop sec assèche les muqueuses et rend visqueuses les sécrétions respiratoires, voire endommage la muqueuse.

(c) L'augmentation de la pollution chimique et physique de l'air ambiant

Les gaz toxiques sont produits par les fermentations ou sont issus de la dégradation de l'urée à partir de la litière. On les retrouve en concentrations importantes particulièrement dans les bâtiments mal aérés ou mal conçus. Un exemple classique est celui du box des veaux placé en contrebas de celui des adultes, dans le fond de la stabulation, là où l'air n'arrive pas. Les gaz (ammoniac, dioxyde de carbone, méthane, hydrogène sulfuré) endommagent la muqueuse et ont une action directe sur les défenses cellulaires (macrophages alvéolaires). Les poussières issues des litières, des bâtiments, des animaux ... véhiculent des germes pathogènes, irritent et mobilisent l'escalator muco-ciliaire.

(2) Les facteurs augmentant les risques de contamination

(a) Augmentation de la pollution biologique de l'air ambiant

Le temps de survie des microbes dans les aérosols et leur concentration dans l'air affectent l'incidence de la maladie. Plus la charge de l'air en contaminants est élevée, plus important sera l'impact de la maladie.

(b) Origines des animaux, surpopulation, confinement, transport

La surpopulation, la taille du troupeau, le mélange d'animaux d'âges et d'origines différents donc de microbismes différents sont autant de facteurs favorisant la transmission et la diffusion d'agents pathogènes (5).

c) Les facteurs déterminants

(1) Les agents infectieux primaires ou initiateurs

L'infection respiratoire produite par ceux-ci est le plus souvent médicalement bénigne, excepté pour le BRSV. Cependant, elle est en général secondairement compliquée d'une infection bactérienne (notamment par des Pasteurelles).

(a) Les virus

(i) Virus respiratoire syncitial bovin (BRSV)

Ce Pneumovirus de la famille des Paramyxovirus, à tropisme uniquement respiratoire, est à l'origine d'un syndrome de détresse respiratoire grave.

(ii) Virus parainfluenza 3 (Pi3)

Ce Paramyxovirus est le plus fréquent dans les élevages, mais c'est aussi le moins dangereux.

(iii) Herpèsvirus bovin de type 1

Le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (I.B.R.) est pathogène pour les voies respiratoires, mais il est également responsable d'une forme génitale (avec vulvo-vaginite pustuleuse et avortements dans le dernier tiers de gestation).

(iv) Adenovirus

Ils touchent en principe les veaux de 3 semaines à 4 mois avec des symptômes d'abord respiratoires puis entéritiques.

(v) Virus de la diarrhée virale bovine (BVD)

C'est un Pestivirus de la famille des Flaviviridae. La forme respiratoire est une pneumonie exsudative, parfois sans forme digestive. Son rôle est surtout initiateur, de par ses facultés immunodépressives.

(vi) Rhinovirus

Ils appartiennent à la famille des Picornaviridae. Ils provoquent de la fièvre, de l'abattement, une anorexie, un jetage lacrymo-nasal, de la toux, une difficulté respiratoire et une conjonctivite.

(b) Les mycoplasmes

Parmi les différentes espèces isolées chez les bovins, les plus importantes dans le complexe BPIE sont *Mycoplasma bovis* et *M.dispar*.

(2) Les agents infectieux secondaires ou de complication

(a) Les Chlamydies

Le rôle des Chlamydies telles que *Chlamydia psittaci* est parfois évoqué.

(b) Les bactéries

(i) Pasteurelles

Deux espèces principales de Pasteurelles interviennent comme agents de surinfection dans les BPIE (pasteurelloses secondaires). Ce sont *Mannheimia haemolytica* et *Pasteurella multocida*. Elles déterminent la gravité et l'étendue de la maladie, le passage à la chronicité, l'essentiel de la mortalité et des pertes économiques. Moins fréquemment, elles peuvent provoquer des encéphalites, des méningites, des otites, des arthrites et des mammites suraiguës. (28,29,46)

Les Pasteurelles sont les hôtes normaux des muqueuses de l'appareil respiratoire supérieur des ruminants, mais la colonisation de l'appareil respiratoire profond est anormale. Trente à 40% des animaux sont porteurs asymptomatiques au niveau du rhinopharynx. Cette absence de symptôme est la conséquence de l'équilibre entre virulence des Pasteurelles et réceptivité de l'hôte. Les affections causées par des agents initiateurs diminuent les capacités de défense générale et locale et favorisent par conséquent l'expression du pouvoir pathogène des Pasteurelles.

La capsule des Pasteurelles s'oppose à la phagocytose. Des structures fimbriales ont été décrites mais leur rôle est controversé.

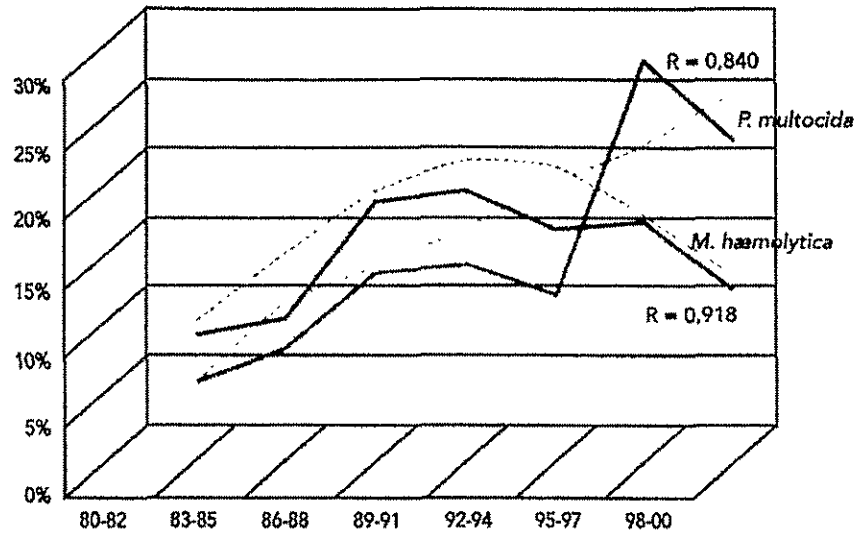
Le pouvoir toxique est dû à deux types de toxines : une endotoxine et une exotoxine thermolabile. L'endotoxine de la paroi de ces bactéries gram- est un lipopolysaccharide très toxique. Présent chez toutes les espèces de Pasteurelles, il déclenche le processus inflammatoire et le choc endotoxinique. L'exotoxine, une leucotoxine, produite par tous les sérotypes de *M.haemolytica*, lyse spécifiquement les globules blancs des ruminants. Elle vise les macrophages alvéolaires, les polynucléaires neutrophiles qui migrent au début de l'inflammation et les lymphocytes. Parmi les produits de lyse de ces cellules, des enzymes endommagent à leur tour le parenchyme pulmonaire.

La situation de *M. haemolytica* est en train de changer : cette bactérie, réputée la plus pathogène, prédominait en France, en particulier le sérotype A1 (groupe capsulaire). Mais ces dernières années (depuis 1994), le sérotype A6 a tendance à le rattraper (28).

M. haemolytica génère des lésions de pleuro-pneumonie lobaire bilatérale fibrineuse sur les lobes antérieurs et moyens avec des zones de nécrose de coagulation délimitées par un liseré de leucocytes. Le tiers antéro-ventral des poumons lésés est ferme à la palpation, et après section révèle un aspect hétérogène dû à des zones hémorragiques, des zones de nécrose et des zones de consolidation. Les lésions inflammatoires sont prédominantes avec un exsudat sérofibrineux dans les espaces interlobulaires et une pleurésie fibrineuse ou une péricardite.

Les fréquences relatives des souches de *P.multocida* et de *M.haemolytica* se sont inversées ces dernières années. C'est aujourd'hui *P.multocida* (sérotype A) qui prédomine dans les prélèvements (cependant les analyses ont lieu la plupart du temps dans les cas d'échec aux traitements ou aux vaccinations, il y a donc un biais possible). On peut l'expliquer par le fait que les vaccins récents ne comportent pas la valence *P.multocida*.

Figure 1 : Evolution de la fréquence d'isolement de *M.haemolytica* et *P.multocida* de 1980 à 2000. (28)



P.multocida agit moins rapidement et donne une broncho-pneumonie purulente des lobes antérieurs et moyens sans lésion multifocale de nécrose de coagulation.

Une troisième espèce, *Haemophilus somnus*, est rencontrée dans les feedlots aux USA, mais il n'est pas rare de l'isoler dans des prélèvements en France. Sa prévalence a été évaluée à environ 14% chez 158 veaux à pneumopathie de 2 à 6 semaines (7), mais elle reste mal connue.

(ii) *Actinomyces pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*

On peut les trouver dans des lésions de pneumonie, mais elles ne sont pas considérées comme des composants primaires du complexe BPIE. Ce sont plutôt des contaminants secondaires du tissu pulmonaire nécrosé ou malade.

Parmi les entérobactéries, on trouve surtout *Salmonella typhymurium*, qui a dépassé *S. dublin*. Elle est ubiquitaire et parfois à l'origine d'une forme respiratoire pure. On a plus rarement des colibacilles, ou des bactéries des genres *Pseudomonas* ou *Klebsiella*.

II. ETUDE SPECIALE : EPIDEMIOLOGIE CLINIQUE, DIAGNOSTIC ET PROPHYLAXIE DES AFFECTIONS A *M. BOVIS*

Le terme «mycoplasme» est un terme générique utilisé pour désigner la classe des Mollicutes. Ce sont les plus petits organismes capables de se répliquer de façon autonome. Ils appartiennent au règne des Procaryotes, à la division III des Ténéricutes et à la classe des Mollicutes, qui comprend 4 ordres et 5 familles (tableau 4). Ils semblent être une forme dégénérative d'un ancêtre Gram+ voisin des Lactobacillus.

Tableau 4 : Taxonomie des Mollicutes (révisée par TULLY et al., 1993) (52)

Ordre 1 : Mycoplasmatales
Famille 1 : Mycoplasmataceae
Genre 1 : **Mycoplasma** : 85 espèces (homme et animaux)
Genre 2 : **Ureaplasma** : 5 espèces (homme et animaux)

Ordre 2 : Entomoplasmatales
Famille 1 : Entomoplasmataceae
Genre 1 : **Entomoplasma** : 5 espèces (insectes et plantes)
Genre 2 : **Mesoplasma** : 4 espèces (insectes et plantes)
Famille 2 : Spiroplasmataceae
Genre 1 : **Spiroplasma** : 11 espèces (insectes et plantes)

Ordre 3 : Acholeplasmatales
Famille 1 : Acholeplasmataceae
Genre 1 : **Acholeplasma** : 9 espèces (homme, animaux, insectes et plantes).

Ordre 4 : Anaeroplasmatales
Famille 1 : Anaeroplasmataceae
Genre 1 : **Anaeroplasma** : 4 espèces (rumen des ruminants)
Genre 2 : **Asteroleplasma** : 1 espèce (rumen des ruminants)

Cette classe est caractérisée par son absence de paroi rigide (pas de peptidoglycane), avec seulement une membrane trilaminaire classique, ayant pour conséquence un pleiomorphisme, une sensibilité à la pression osmotique et une fragilité. Cependant, cette absence de paroi conduit à une résistance naturelle aux antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi (comme les ß lactamines). Ils sont de petite taille (0,15 à 0,8 µm) et possèdent un génome également réduit. Cela implique une capacité de biosynthèse limitée et donc des exigences culturales particulières. Cela implique également une adaptation à des niches écologiques précises : ce sont exclusivement des parasites, des saprophytes ou des commensaux d'organismes supérieurs (largement répandus chez tous les animaux et les végétaux), avec une spécificité d'hôtes et de tissus (muqueuses respiratoire, génitale et oculaire) (26) (35). Cette spécificité d'hôte est préférentielle mais pas exclusive : *Mycoplasma canis, M.capricolum et M.gallisepticum* existent parfois chez les bovins et *M. mycoïdes subsp. mycoïdes* biotype Small Colony a pu être isolé chez la chèvre et le mouton.

Chez les bovins, on peut les classer arbitrairement en 4 grands groupes sur la base de critères physiopathologiques (23) :

1. Des espèces isolées exceptionnellement, dont on ignore la pathogénécité : *M. canis, M. gallisepticum, M. alkalescens.*

2. Des espèces fréquemment isolées, sans pouvoir pathogène démontré (saprophytes) : *M. bovirhinis, M. bovigenitalium, Acholeplasma laidlawii* ou des contaminants secondaires (phase terminale de l'infection) comme *M. arginini.*

3. Des espèces fréquemment isolées avec un certain pouvoir pathogène expérimental, mais mal défini : *M. dispar, Ureaplasma diversum.*

4. Des espèces au pouvoir pathogène démontré, à l'origine de pertes économiques importantes : *M. mycoides subsp. mycoides* biotype SC, agent de la péripneumonie contagieuse bovine (sporadique en Europe, mais une menace majeure pour l'élevage en Afrique.) et *M. bovis*, intervenant dans les Bronchopneumonies Infectieuses Enzootiques.

Le rôle des mycoplasmes dans le déclenchement et l'évolution des troubles respiratoires n'est pas totalement connu, et probablement sous estimé. En effet, ils ne sont pas inclus dans les procédures de diagnostic de routine, du fait des difficultés d'accès aux voies respiratoires inférieures et des particularités techniques du diagnostic bactériologique (26).

A. Epidémiologie

1. Descriptive

Les infections à *M. bovis* sont cosmopolites. De nombreuses études les mentionnent en Amérique du nord et en Europe. Globalement c'est une affection qui semble en extension sous l'influence de plusieurs facteurs : les techniques d'élevage qui s'intensifient, les échanges commerciaux qui s'accroissent et, de plus, la résistance de la bactérie aux antibiotiques courants qui augmente (26).

En France, la prévalence de *M. bovis* dans le cheptel sain serait inférieure à 3% (5). L'isolement sur des animaux sains reste toujours sporadique (23). De 1988 à 1990, la prévalence de l'infection dans le cheptel national français (23) a été évaluée sur 10000 animaux de 190 troupeaux. Le taux d'infection des animaux était voisin de 10% et celui des troupeaux de 40% (23).

Une récente étude réalisée en 2002 incluant environ 32000 bovins allaitants de plus d'un an montre que la proportion de troupeaux contenant au moins un animal infecté varie de 28 à 90% selon les départements, que le taux d'animaux infectés varie de 2 à 13% selon les départements, et que dans les troupeaux infectés, la proportion d'animaux infectés varie de 10 à 20 % (22).

La bactérie est fréquemment isolée dans les foyers de pneumopathies. Une étude réalisée en France sur 39 élevages de jeunes bovins à l'engrais a démontré que *M. bovis* était présent dans 25 à 30 % des foyers de pneumopathies (38). En Belgique, sur 525 poumons pathologiques, *M. bovis* a été isolé dans 27,5 % des cas (26). Sur 158 veaux mâles de 2 à 6 semaines atteints d'une pneumopathie, BERA (7) a démontré que la prévalence globale des mycoplasmes (*M. bovis, M. bovirhinis et M. arginini*) est de 71% et le plus souvent en association avec d'autres germes (en particulier des Pasteurelles).

Aux USA, dans les unités d'engraissement intensif, la fréquence d'isolement varie de 0 à 76% selon les régions (23).

En Suisse, *M. bovis* est présent de manière endémique. L'étude montre une prévalence de 47 % sur les troupeaux et de 6,1% sur les vaches (8).

Dans les affections articulaires et génitales, la part de *M. bovis* est mal connue, et l'isolement lors d'arthrite est difficile. Dans une zone d'enzootie, *M. bovis* a été isolé dans 38% des cas d'arthrites (23).

2. Analytique

a) Source

La source principale est constituée par les animaux malades. Lors de pneumopathies à mycoplasmes, on trouve de 10^6 à 10^8 mycoplasmes par gramme de poumon. Toutes les sécrétions sont potentiellement virulentes puisqu'on a une phase systémique. Les convalescents restent excréteurs pendant des mois. Dans les foyers d'infection on a de nombreux infectés latents (23).

b) Survie de *M. bovis* dans le milieu extérieur

C'est une bactérie sans paroi donc sensible aux variations de pression osmotique et relativement fragile dans le milieu extérieur. Cependant elle peut persister dans certains matériaux (éponges, paille, eau, bois, métal, fumier, sperme congelé) (figure 2) et être véhiculée par des aérosols d'animal à animal (23).

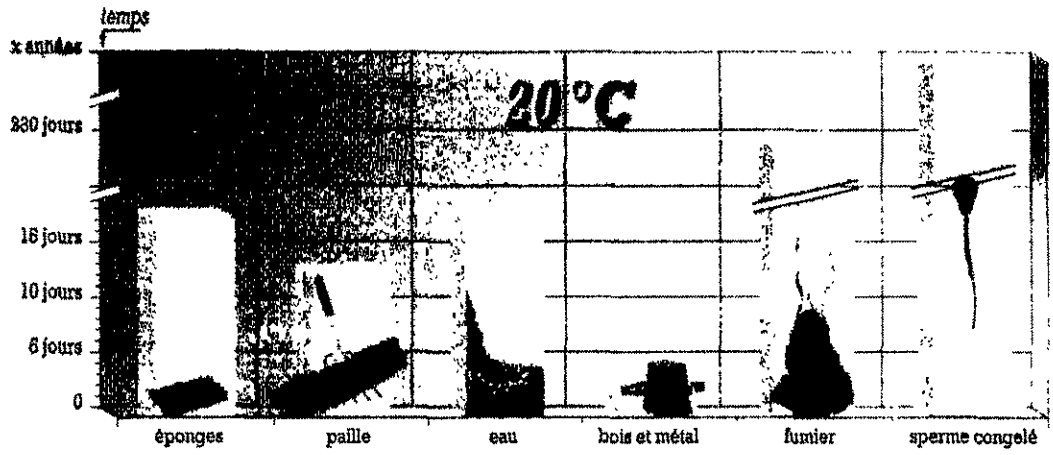


Figure 2 : Durée de conservation de *M.bovis* à 20°C sur plusieurs supports (23).

c) Transmission

La transmission de *M. bovis* est généralement directe, principalement par contact étroit ou par le biais d'aérosols, qui sont le principal mode de contamination lors de bronchopneumonie infectieuse enzootique. Ils assurent une contamination rapide, en effet au cours d'une infection expérimentale réalisée par voie endotrachéale sur 8 veaux appartenant à un lot de 24, les 24 veaux étaient tous excréteurs 8 jours après (23). Ce schéma se reproduit notamment lors d'introduction d'infectés latents dans une exploitation saine.

La transmission verticale directe n'est pas à négliger, qu'elle se produise par voie transplacentaire, à la parturition ou par consommation de lait contaminé. Les veaux de vaches ayant fait une mammite à mycoplasmes excrètent le germe pendant douze mois au moins, *M. bovis* s'installant dans les voies respiratoires jusqu'à maturité sexuelle. Les génisses sont réexcrétrices à la première mise bas et leur descendance est infectée (23).

d) Voies de pénétration

Chez les jeunes animaux principalement, ce sont les muqueuses respiratoires qui sont la cible des bactéries. La voie diathélique est impliquée dans les infections mammaires et la voie hématogène, à partir de foyers pulmonaires ou articulaires, semble possible. Les veaux peuvent également se contaminer par voie orale au cours de la tétée. (23)

e) Facteurs de risque

Dans une étude réalisée en Suisse, le commerce de veaux et de vaches, ainsi qu'un nombre élevé de veaux achetés dans l'année précédente sont des facteurs significativement plus fréquents dans les exploitations sérologiquement positives. Par contre il n'y a pas de corrélation avec l'état sanitaire des animaux (avortement, pneumonie, arthrite chez des adultes) ni avec le niveau de production laitière (8).

B. Mécanismes du pouvoir pathogène

Les connaissances sont encore faibles dans ce domaine mais on sait que *M. bovis* ne possède pas de structure d'attachement particulière, qu'il est capable d'interagir avec les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes, qu'il possède des propriétés antiphagocytaires, et qu'il envahit l'épithélium respiratoire par ses capacité invasives. Il est capable également d'adhérer aux cellules embryonnaires pulmonaires bovines et aux cellules épithéliales bronchiques bovines grâce à son pouvoir d'adhésion (23, 26).

Il possède également une capacité à modifier rapidement les déterminants antigéniques exposés à sa surface.

1. Propriétés antiphagocytaires

Il a été démontré *in vitro* sur des cultures de macrophages alvéolaires bovins, que *M. bovis* et *M. dispar* sont capables de survivre en inhibant la phagocytose proprement dite. De plus l'ingestion d'autres bactéries est significativement réduite.

Cependant l'activité tueuse des macrophages n'est pas altérée.

Les mécanismes par lesquels les mycoplasmes inhibent la phagocytose ne sont pas connus.

2. Propriétés invasives

Selon les espèces, les mycoplasmes restent en surface des cellules trachéales, ou pénètrent à l'intérieur en provoquant un réarrangement du cytosquelette, et/ou pénètrent en profondeur dans la muqueuse. *M.bovis* pénètre entre les cellules épithéliales jusqu'à la lamina propria où il prolifère. Ajouté à la réponse immunitaire, il provoque une nécrose coagulative et un détachement de la couche épithéliale *in vitro*. *In vivo*, il existe des localisations intracellulaires dans les cas chroniques permettant aux mycoplasmes d'échapper aux défenses de l'hôte. De plus, il est possible d'isoler *M. bovis* en phase aiguë dans le sang et différents organes, ce qui montre le passage à un caractère systémique de l'infection (23) (26).

3. Propriétés d'adhésion

Les récentes études de THOMAS et al. (48) démontrent que les capacités d'adhésion de *M. bovis* aux cellules de l'hôte sont fonction de la souche, de son nombre de passages en culture et de la lignée cellulaire testée. Ces auteurs démontrent également que *M. bovis* est capable d'adhérer aux cultures primaires de cellules épithéliales bronchiques bovines au moyen de protéines membranaires variables (Vsps) (43 et 44).

4. La variabilité antigénique

C'est un phénomène dont la découverte est récente.

M. bovis possède à sa surface des systèmes antigéniques membranaires qui sont soumis à des variations de taille et d'expression. Ces variations surviennent à une fréquence très élevée (10^{-2} à 10^{-4} par cellule et par génération). Elles se produisent au sein de l'espèce mais également au cours des générations issues d'une même cellule (variabilité intra clonale).

Il existe différents types de systèmes antigéniques hypervariables (SAH) chez *M. bovis*. Ce peut être des lipoprotéines, les Vsps (variable surface proteins, de type A, B, C, ...) ou une protéine (non lipoprotéine), la pMB67. Les combinaisons antigéniques de surface sont infinies.

Le génome des mycoplasmes est de taille réduite (600 à 1300 Kb). Dans ce génome, les gènes codant pour ces SAH occupent une grande place (13 gènes *VSP*). Ces systèmes doivent donc avoir une importance réelle, probablement dans la survie et le pouvoir pathogène du germe.

Les fonctions des SAH de *M.bovis* n'ont pas toutes été démontrées (21). Les hypothèses établies pour *M. bovis* l'ont été par rapport à ce qui a été observé dans d'autres espèces de Mycoplasmes. Elles pourraient donc intervenir dans le pouvoir invasif et dans le tropisme cellulaire varié de la bactérie (en variant les configurations d'adhérence).

D'autres rôles ont par contre été démontrés in vitro, notamment en ce qui concerne l'adhésion cellulaire et l'échappement à une pression immunitaire humorale. Cet échappement a deux principes : l'élimination des épitopes reconnus ou la modification de l'accessibilité des épitopes (43, 44, 24).

Ce mécanisme d'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte est très probablement le moyen permettant au germe de persister dans l'organisme.

5. Effets délétères sur l'hôte

L'action toxique de *M. bovis* porte sur ces points : la production d'une toxine et l'exacerbation ou l'interférence avec la réponse immunitaire. Il existe une toxine de *M. bovis*, extraite à l'éthanol à 75%, qui serait un polysaccharide thermostable de poids moléculaire 73000 Dalton, localisé dans la membrane plasmique associé à des protéines. Ce n'est pas une exotoxine dans la mesure où il n'y a pas d'effet toxique du surnageant de culture. Son activité passe par une exacerbation de la réponse inflammatoire, par augmentation de la perméabilité capillaire et activation de la cascade du complément. Son action est donc proche de celle du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries gram -.

L'interaction entre *M. bovis* et les macrophages alvéolaires entraîne une activation et un relargage de cytokines dont le TNF α (tumor necrosis factor), des radicaux actifs d'oxygène, d'azote, à activité procoagulante.

L'immunité à médiation cellulaire interviendrait par un phénomène d'hypersensibilité de type IV dans le développement des lésions (27).

C. Symptômes et lésions

1. Affections respiratoires : Broncho-pneumonies

Dans les pathologies respiratoires du veau et du jeune bovin, les pneumopathies sont souvent déterminées par plusieurs facteurs, aussi attribuer son rôle à chacun reste difficile.

L'infection naturelle à *M.bovis* n'a pas de particularité symptomatologique. Il convient de l'évoquer lors de pneumonie associée à une arthrite ou lors de toux chronique (26). Lors de bronchopneumonies catarrhales, la participation de ce germe est fréquente ; on observe également des bronchopneumonies chroniques souvent associées à des abcès pulmonaires (23).

L'histologie montre une infiltration de cellules mononucléées en région péribronchiolaire (péribronchiolite) et alvéolaire, ainsi que des foyers de bronchiolite suppurative associés à une hyperplasie lymphoréticulaire typiques d'une pneumonie aiguë exsudative.

Ces lésions ont été décrite par THOMAS et al. (50) lors d'une reproduction expérimentale d'infection à *M. bovis*. *M. bovis* a été inoculé par voie intranasale à 7 veaux qui ont ensuite été autopsiés 14 à 27 jours après l'inoculation. Cinq des 7 veaux présentent des plages de nécrose de coagulation de tailles variables et tous une bronchiolite suppurative avec des degrés variables d'hyperplasie lymphoréticulaire péribronchiolaire. Les lésions nécrotiques sont situées en zone péribronchiolaire et périvasculaire. Dans leurs formes les moins avancées les lésions consistent en une accumulation de substance éosinophile pâle et amorphe avec des macrophages et des cellules pyknotiques dans lesquelles on retrouve *M.bovis*. Dans les lésions plus avancées la substance éosinophile est entourée par une bande de cellules picnotiques et une large bande de cellules inflammatoires (surtout mononucléées).

Expérimentalement, il a été démontré qu'une action conjointe de *Mannheimia haemolytica* et de *M. bovis* augmente l'étendue des lésions, surtout si l'infection par *M. bovis* survient 1 à 2 jours avant l'inoculation des Pasteurelles (15).

2. Formes articulaires

Il s'agit d'une polyarthrite invalidante. Les lésions observées sont représentées par une inflammation sérofibrineuse associant arthrite, périarthrite et ténosynovite qui touche principalement le carpe et le tarse.

3. Synergie avec d'autres agents pathogènes

HOUGTON et GOURLAY (19) ont reproduit expérimentalement des pasteurelloses et des mycoplasmoses sur des veaux gnotobiotiques. Les veaux auxquels on a administré à la fois *M. bovis* et *M. haemolytica* sont plus sévèrement touchés que ce qu'on pourrait attendre si on additionnait les effets de chaque agent. Cela suggère une synergie entre les agents pathogènes pour induire une pathologie plus grave. L'hypothèse avancée est que *M. bovis* pourrait gêner la clearance de *M. haemolytica*.

En effet, l'un des 2 veaux gnotobiotiques de l'expérience, auxquels on a administré par voie intranasale *M.haemolytica,* a développé des lésions d'hépatisation rouge (1% du parenchyme pulmonaire), tandis que l'autre n'a présenté aucune lésion. Cependant les 2 animaux ont présenté une phase de maladie avec récupération en 6 jours.

Les deux veaux suivants auxquels on a administré simultanément par voie intranasale *M. haemolytica* et *M. bovis* ont développé une maladie plus grave, et présentaient à l'autopsie des lésions plus importantes avec consolidation des lobes droit et cardiaque, une pleurésie

fibrineuse et des adhérences sur tous les lobes. L'hépatisation rouge était beaucoup plus étendue (34 et 55%).

Les deux veaux suivants auxquels on a administré uniquement *M.bovis* ne montrent pas de signe clinique et à l'autopsie seulement 6 et 1% du poumon présentaient de l'hépatisation rouge.

Une autre étude des mêmes auteurs (15) a confirmé ces résultats mais a également apporté une précision quant à la chronologie de l'infection. La maladie et les lésions étaient plus sévères avec une consolidation pulmonaire plus étendue lorsque *M.bovis* était inoculé un jour avant *M. haemolytica* plutôt que l'inverse.

Enfin, une dernière étude (50) n'a montré aucune synergie entre *M. bovis* et le virus respiratoire syncitial bovin.

D. Diagnostic expérimental

Le diagnostic de laboratoire est un recours obligatoire, dans la mesure où il s'agit d'une pathologie multifactorielle avec une symptomatologie non spécifique.

1. Types de prélèvements

Le prélèvement doit être acheminé sous couvert du froid et dans de brefs délais (<24h et à 4°C), sinon il est préférable de congeler l'organe (lobe pulmonaire) ou le prélèvement à -20°C.

a) Animal vivant

L'isolement de *M. bovis* peut être réalisé chez l'animal vivant sur du liquide de lavage broncho-alvéolaire ou du liquide d'aspiration trans-trachéale. L'isolement sur écouvillonnage nasal n'est pas de signification étiologique certaine en raison du possible portage asymptomatique (23).

Lors d'arthrite, le liquide synovial prélevé en phase aiguë est un bon prélèvement (26), mais nécessite des conditions rigoureuses d'asepsie. En phase subaiguë ou chronique, l'isolement est plus difficile.

Pour le diagnostic indirect, on pratique deux prises de sang couplées, à 15 jours d'intervalle minimum.

b) Animal mort

Le prélèvement est un lobe pulmonaire ou une articulation, dans le cas d'une arthrite.

2. Diagnostic direct

Les mycoplasmes sont difficiles à cultiver et à identifier car ils nécessitent des conditions de culture et des techniques d'identification particulières. Aussi en pratique la recherche est elle rarement demandée, excepté lorsque les étiologies habituelles ont déjà été écartées.

a) Isolement

Les milieux de culture utilisés sont de composition complexe et diffèrent selon les espèces recherchées. Des agents sélectifs (β lactamines, acétate de thallium) et des facteurs de

croissance (stérols) sont adjoints au milieu. Un exemple de milieu utilisé pour l'isolement de *M. bovis* est repris en annexe 1.

L'incubation dure de 3 à 7 jours à 37°C sous atmosphère humide aéro-anaérobie (5% CO2, 95% air) (5).

b) Identification

Parmi toutes les espèces de mycoplasmes identifiables chez les bovins (une quarantaine), toutes ne sont pas pathogènes. L'isolement d'un mycoplasme n'est donc pas significatif tant qu'il n'est pas identifié. Il existe des espèces saprophytes (*M.bovirhinis, M.bovigenitalium, M.arginini, Acholeplasma laidlawii*) qui sont fréquentes et parfois associées à *M.bovis* (20 à 30% des cas).

(1) Approche classique

Les méthodes classiques comme la biotypie, l'inhibition de croissance en présence d'immun sérum homologue ou l'immunofluorescence sont longues et fastidieuses.

On préfère aujourd'hui les tests immunoenzymatiques, comme le Membrane Filtration Dot immunobinding (MF dot) utilisant des sérums polyclonaux et directement pratiqués sur les cultures après un pré-enrichissement de 2 à 5 jours (26).

(2) Recherche d'antigènes directement sur les prélèvements

Il existe des tests ELISA utilisés pour la recherche de l'antigène après enrichissement en milieu liquide pendant trois jours et des tests de marquage spécifique sur coupe d'organe (immunohistochimie), mais ces deux méthodes utilisent un anticorps monoclonal dont la variabilité de l'épitope cible n'a pas été évaluée.

(3) Diagnostic génétique

L'amplification génique (Polymerase Chain Reaction - PCR) permet de contourner le problème de la variabilité antigénique. De plus c'est une méthode sensible, spécifique et rapide. Les premières PCR utilisées visaient une séquence spécifique hautement conservée des gènes codant pour l'ARN ribosomial 16 S. Cependant elles amplifiaient également l'ADN de *M. agalactiae* et étaient peu performantes directement appliquées sur les prélèvements (lait et jetage nasal) (23). La méthode PCR mise au point plus récemment par FREY et al. en 1999 est beaucoup plus spécifique. Elle est basée sur la détection du gène *uvr*C (32).

3. Diagnostic indirect (diagnostic sérologique)

L'hémagglutination passive, les tests ELISA, ... sont utilisés pour mettre en évidence les anticorps anti *M.bovis* dans le sérum ou le lait. La sérologie en prises de sang couplées permet de définir le statut des troupeaux quant aux pneumopathies, ou celui des animaux lors d'achat. Cependant, les titres en anticorps apparaissent 10 à 15 jours après l'infection et les tests ne permettent pas de détecter les porteurs latents (26). La persistance des anticorps dans le sang est longue. Une étude portant sur des vaches expérimentalement et naturellement infectées montre que des titres élevés et stables se maintiennent pendant au moins dix mois (37).

La sensibilité des méthodes immunologiques directes et indirectes a été remise en question par la découverte récente du potentiel de diversification antigénique élevé des

mycoplasmes. Cependant, l'utilisation d'anticorps polyclonaux ou de polyantigènes devrait permettre de s'affranchir de cette variabilité.

E. Prophylaxie des mycoplasmoses

1. Médicale

Malgré plusieurs essais de vaccins inactivés, il n'en existe actuellement pas de commercialisé. L'obtention d'un vaccin doit être révisée au vu des données sur l'hypervariabilité antigénique de *M.bovis* (26).

2. Sanitaire

La transmission directe de la maladie et l'unicité de l'espèce concernée sont favorables à l'application d'une prophylaxie sanitaire basée sur le contrôle des échanges d'animaux. Cependant, bien que les prévalences nationale et internationale exactes de l'infection soient mieux connues, elles ne permettent pas de constituer un plan de lutte raisonné.

Pour une bonne désinfection, on préférera le formaldéhyde et l'acide acétique aux hypochlorites qui demandent une concentration forte, un temps de contact long et sont inactivés par les matières organiques.

La prophylaxie des BPIE en général passe aussi par le contrôle des facteurs d'ambiance et des affections intercurrentes.

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

EVALUATION DE LA PREVALENCE ET DE L'INCIDENCE DE L'INFECTION A *MYCOPLASMA BOVIS* DANS DIX LOTS D'ENGRAISSEMENT DE VEAUX DE BOUCHERIE

I. INTRODUCTION

Les objectifs de l'étude étaient d'évaluer la prévalence et l'incidence de l'infection à *Mycoplasma bovis* au cours d'un épisode de pathologie respiratoire sur une population représentée par 10 lots de veaux non sevrés rassemblés pour l'engraissement.

La prévalence de l'infection a été évaluée par l'isolement de *M. bovis* à partir de prélèvements de liquides de lavages broncho-alvéolaires réalisés en début de pathologie respiratoire.

L'incidence a été estimée par analyse des séroconversions.

II. MATERIEL ET METHODE

A. Population cible et échantillonnage

Les animaux prélevés étaient des veaux de race Montbéliarde ou Prim'holstein non sevrés, mis en lots à 10-15 jours d'âge, et engraissés au lait reconstitué. Les lots étaient composés en moyenne d'une centaine d'animaux. Ces animaux provenaient d'élevages et de départements différents.

Les dix lots de notre étude étaient répartis dans neufs ateliers d'engraissement, situés dans les départements suivant : 70 (Haute-saône), 39 (Jura), 01 (Ain) et 71 (Saône-et-Loire).

Les centres d'engraissement sont regroupés en un système de coopérative qui dépêche des techniciens et des vétérinaires pour le suivi zootechnique et médical des animaux.

Les lots à prélever étaient des unités d'élevage distinctes les unes des autres (appartenant à un même producteur mais éloignées géographiquement ou appartenant à des producteurs différents) ou des lots d'un même atelier pour lesquels il existait une séparation physique du lot (mur ou local différent).

Tous les animaux ont été introduits simultanément.

Un traitement antibiotique systématique est réalisé à la mise en lot. Il consiste en une association sulfamide trimétoprime / colistine.

B. Locaux d'élevage et alimentation

Les bâtiments étaient construits selon le même schéma. En général, il s'agissait de bâtiments neufs, séparés en 2 parties et permettant de loger plusieurs lots de veaux (figure 3).

L'aération et l'isolation étaient réalisées avec soin ; on avait soit une ventilation active par des ventilateurs connectés à un régulateur (figure 5), soit une ventilation passive par des évents et un échappement de l'air chaud par le faîte du toit (figures 4 – 6).

Les animaux sont placés sur aire paillée (figure 7).

Les veaux étaient alimentés à volonté avec du lait reconstitué distribué à la louve. La louve est un ensemble de cinq à huit tétines en caoutchouc alignées et situées du côté des veaux (figure 9). Une mélangeuse adjoint l'eau, chauffée à température voulue, au lait en poudre et aux éventuels médicaments (figure 8). La poudre de lait est amenée par une vis sans fin depuis un silo. Une petite quantité est préparée à l'avance et rapidement consommée (figure 10). La consommation est mesurée quotidiennement.

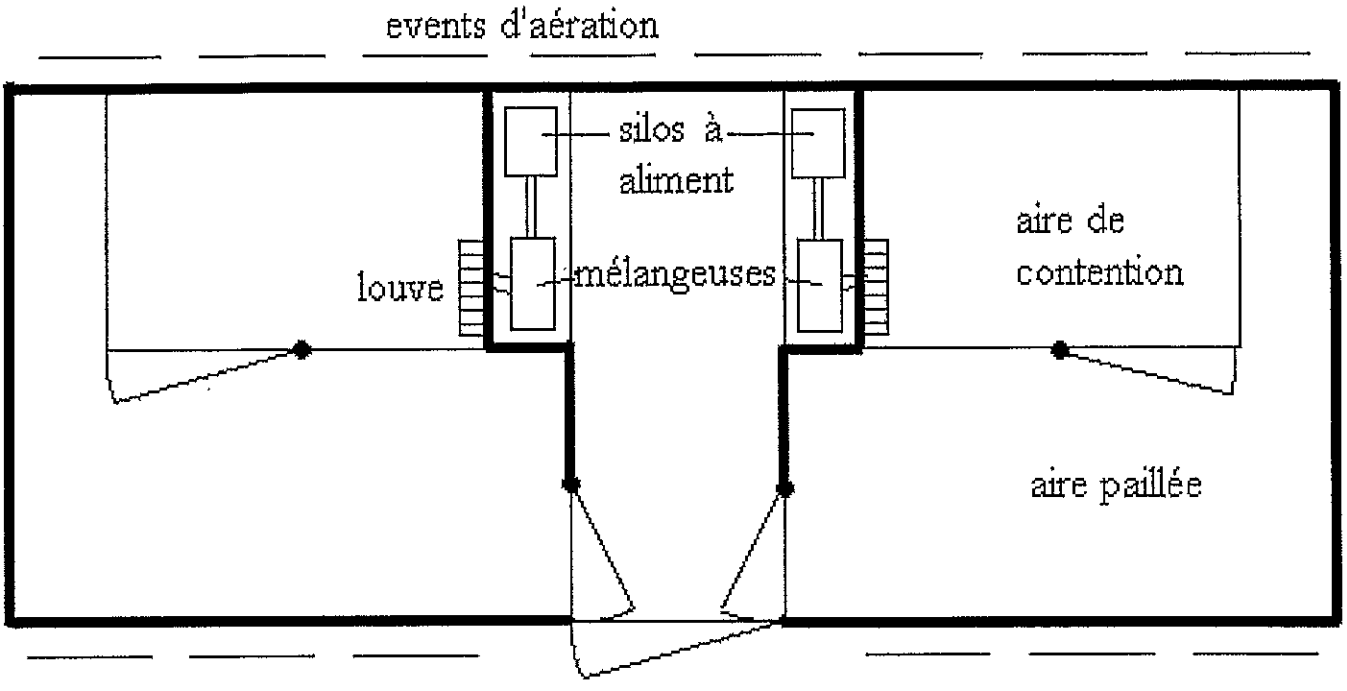


Figure 3 : Plan type des bâtiments d'élevage

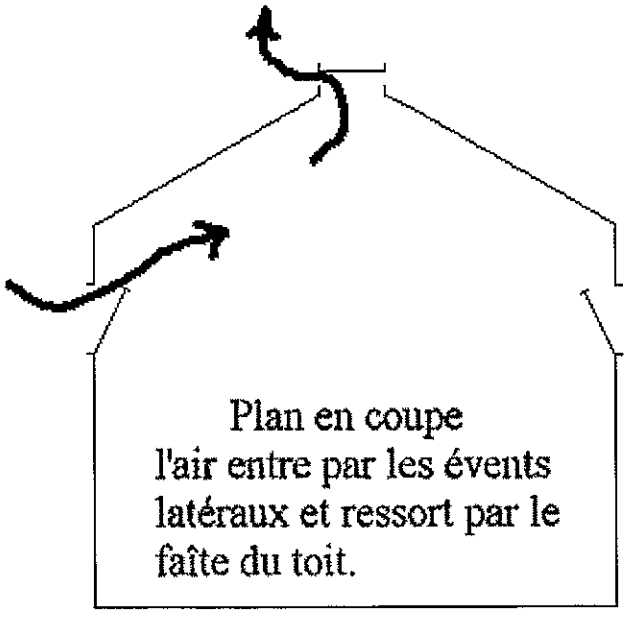


Figure 4 : Principe de la ventilation passive

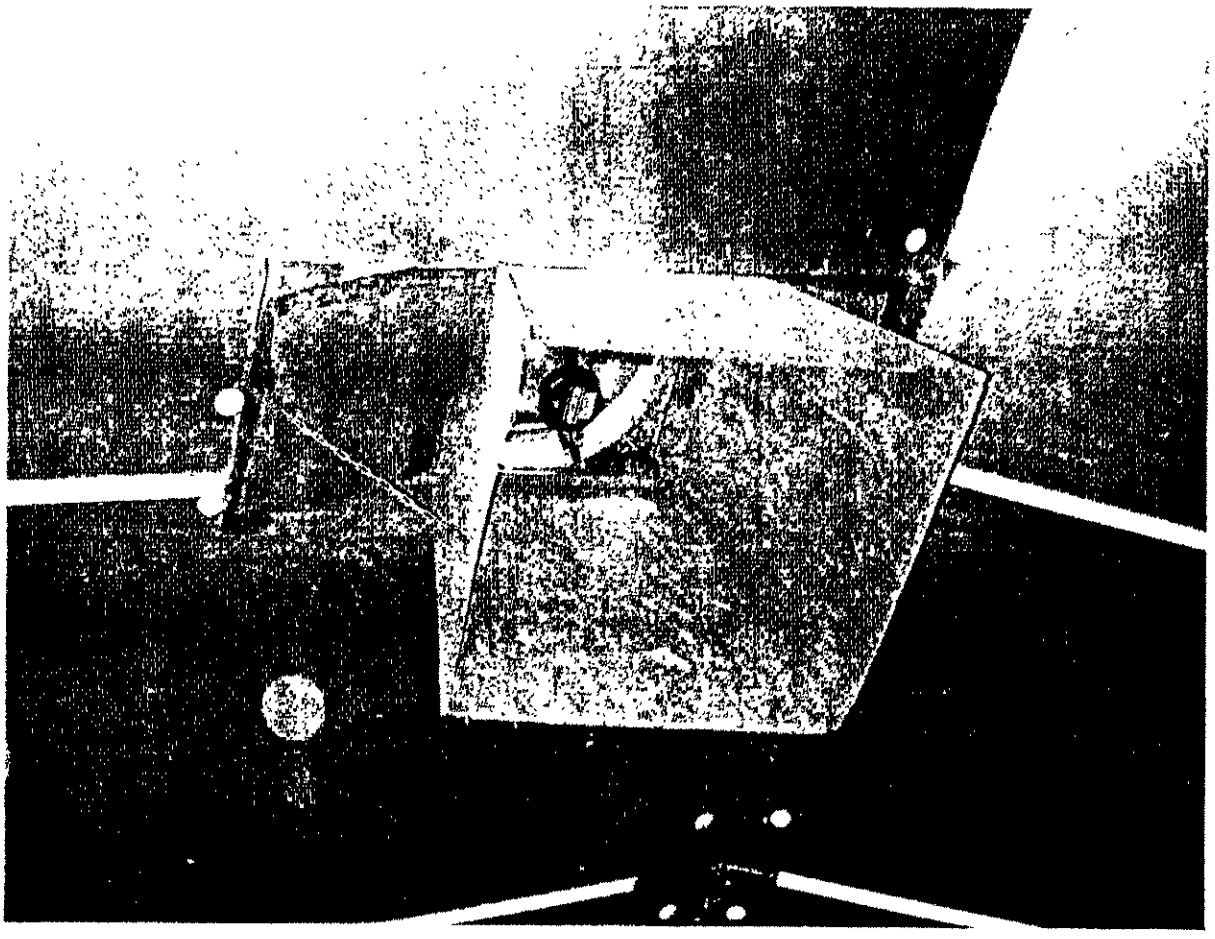


Figure 5 : Extraction d'air par ventilation

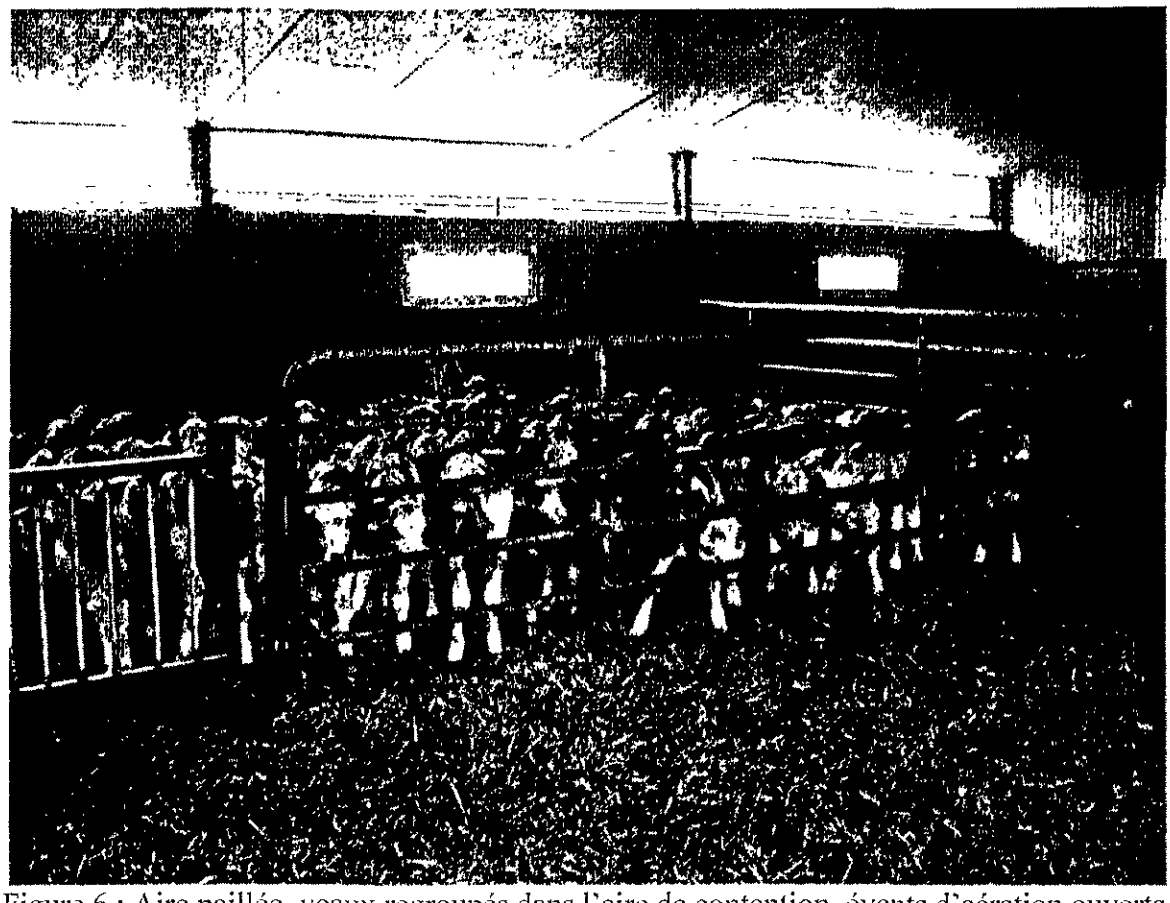


Figure 6 : Aire paillée, veaux regroupés dans l'aire de contention, évents d'aération ouverts.

Figure 7 : Veaux sur l'aire paillee

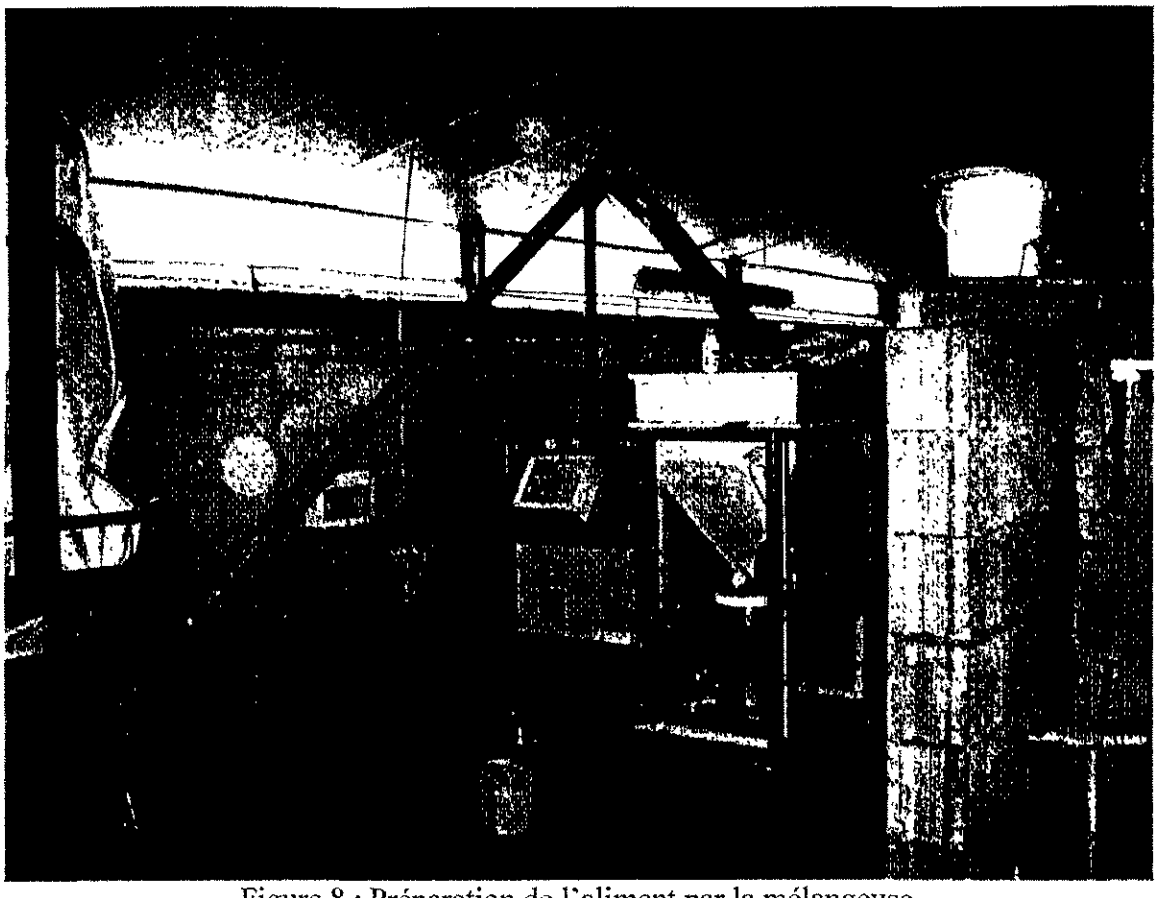


Figure 8 : Préparation de l'aliment par la mélangeuse.
Derrière le mur se trouve la louve et les veaux.

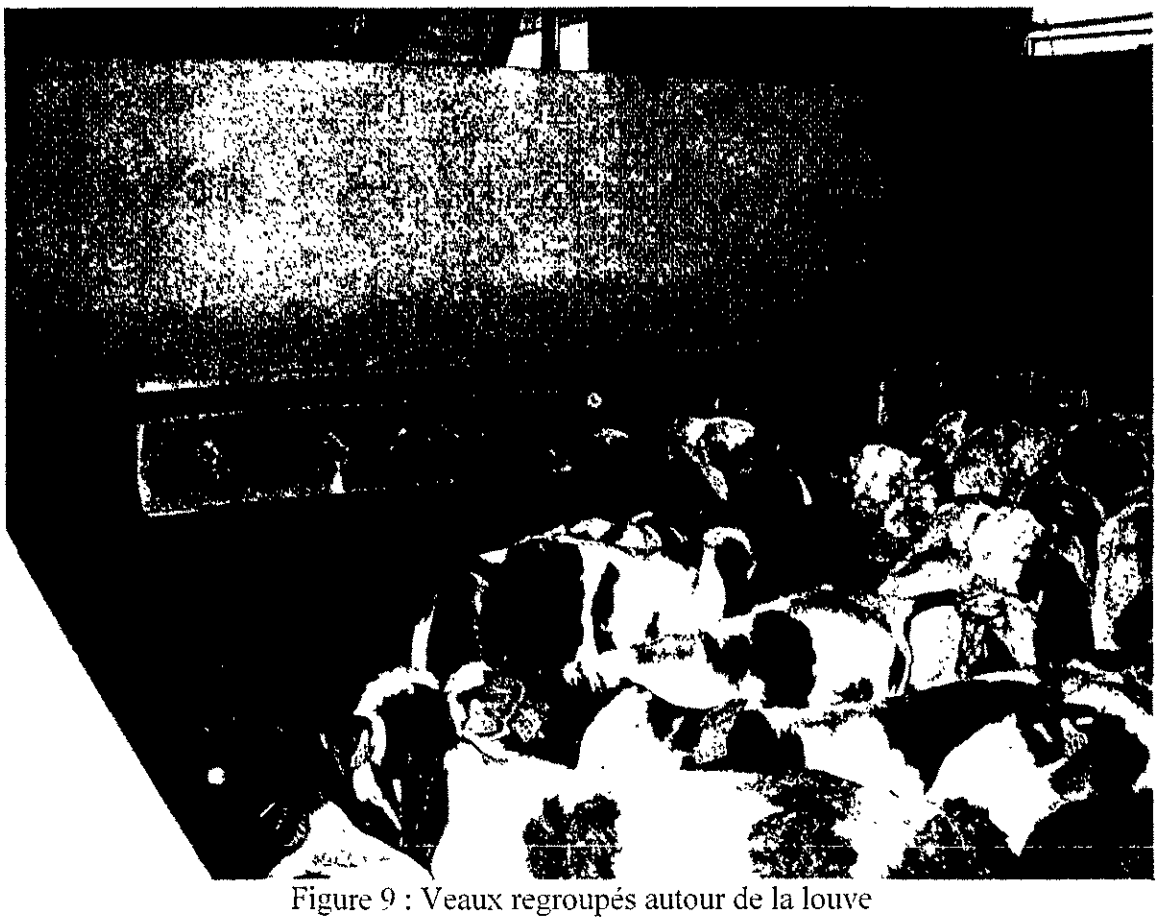


Figure 9 : Veaux regroupés autour de la louve

Figure 10 : Veaux à la tétée

C. Techniques de prélèvements

1. Le Lavage Broncho-Alvéolaire (LBA) par voie naso-trachéale

Le LBA permet le prélèvement de cellules, bactéries et virus présents dans la lumière des voies respiratoires profondes sans recourir ni à l'endoscopie (coûteuse et lourde à mettre en œuvre en série) ni à l'aspiration trans-trachéale (14).

a) Matériel

On prévoit pour chaque veau :

- une sonde pour LBA stérile (tube Tygon (Bioblock), longueur 1m20, diamètre interne 1,6 mm et diamètre externe 4,8 mm),
- deux seringues de 50 ml stériles,
- du soluté stérile de chlorure de sodium (NaCl) isotonique (0,9%),
- un pot stérile pour la récolte du liquide de lavage broncho-alvéolaire.

On a également utilisé une boîte isotherme et des réfrigérants pour l'acheminement des prélèvements vers le laboratoire (figure 11).

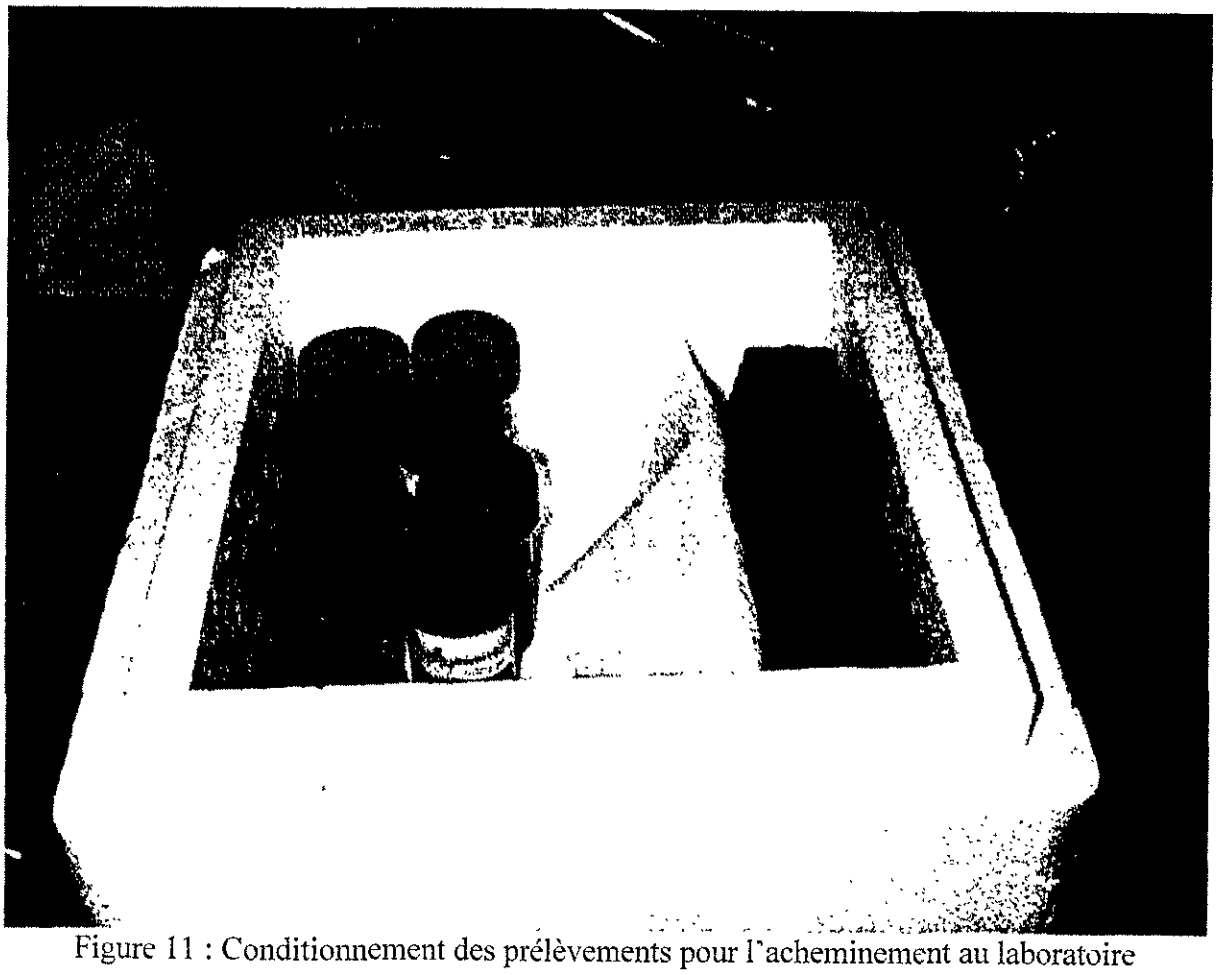


Figure 11 : Conditionnement des prélèvements pour l'acheminement au laboratoire

b) Mode opératoire

(1) Contention

La contention est assurée par deux personnes. Le veau est bloqué en arrière dans un angle du bâtiment. Une première personne tient l'arrière du veau, l'autre l'encolure et la tête.

(2) Lavage broncho-alvéolaire

❶ Remplir deux seringues de NaCl 50 mL.

❷ Nettoyer l'orifice nasal à l'aide d'une lingette imprégnée d'une solution désinfectante (solution alcoolique de digluconate de chlorhexidine) (figure 12).

❸ Maintenir la tête de l'animal en extension vers le haut et dans le prolongement de l'encolure.

❹ Introduire la sonde le long du septum nasal puis dans le méat ventral en la guidant avec l'index. Le réflexe de toux et l'extériorisation de la langue confirment son passage dans la trachée (figures 13 - 15).

❺ Pousser la sonde jusqu'au blocage dans une grosse bronche et la maintenir en place (figure 15).

❻ Injecter 50 mL de NaCl (figure 16).

❼ Réaspirer immédiatement le liquide de lavage broncho-alvéolaire avec la même seringue en dirigeant la sonde vers le bas (on récupère au maximum 30% du volume injecté) (figures 18 - 19).

❽ Transférer le liquide d'aspiration dans un pot stérile identifié (figure 20).

❾ Les prélèvements sont immédiatement placés dans une enceinte isotherme avec des réfrigérants. La bactériologie spéciale ou générale sera réalisée dans les 12 heures.

Figure 12 : Nettoyage de l'orifice nasal.

Figure 13 : Introduction de la sonde.
Tenir la sonde comme un stylo, la faire progresser et la maintenir médialement et ventralement.

Figure 14 : Sonde maintenue dans l'orifice nasal.

Figure 15 : Passage dans la trachée.
L'extériorisation de langue indique un passage dans la trachée.

Figure 16 : Injection du sérum physiologique (NaCl 0,9 %)

Figure 17 : Aspiration immédiate du liquide injecté.
Abaisser la seringue pour l'aspiration.

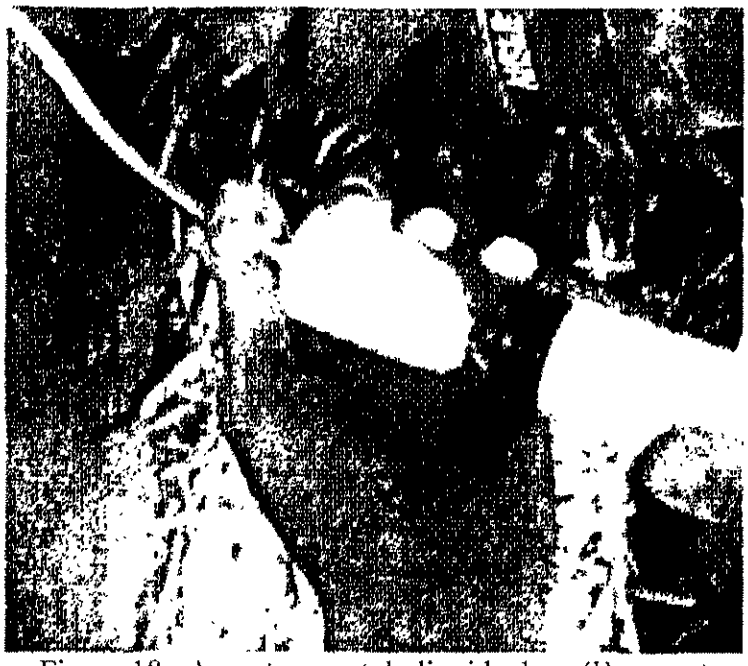


Figure 18 : Aspect correct du liquide de prélèvement

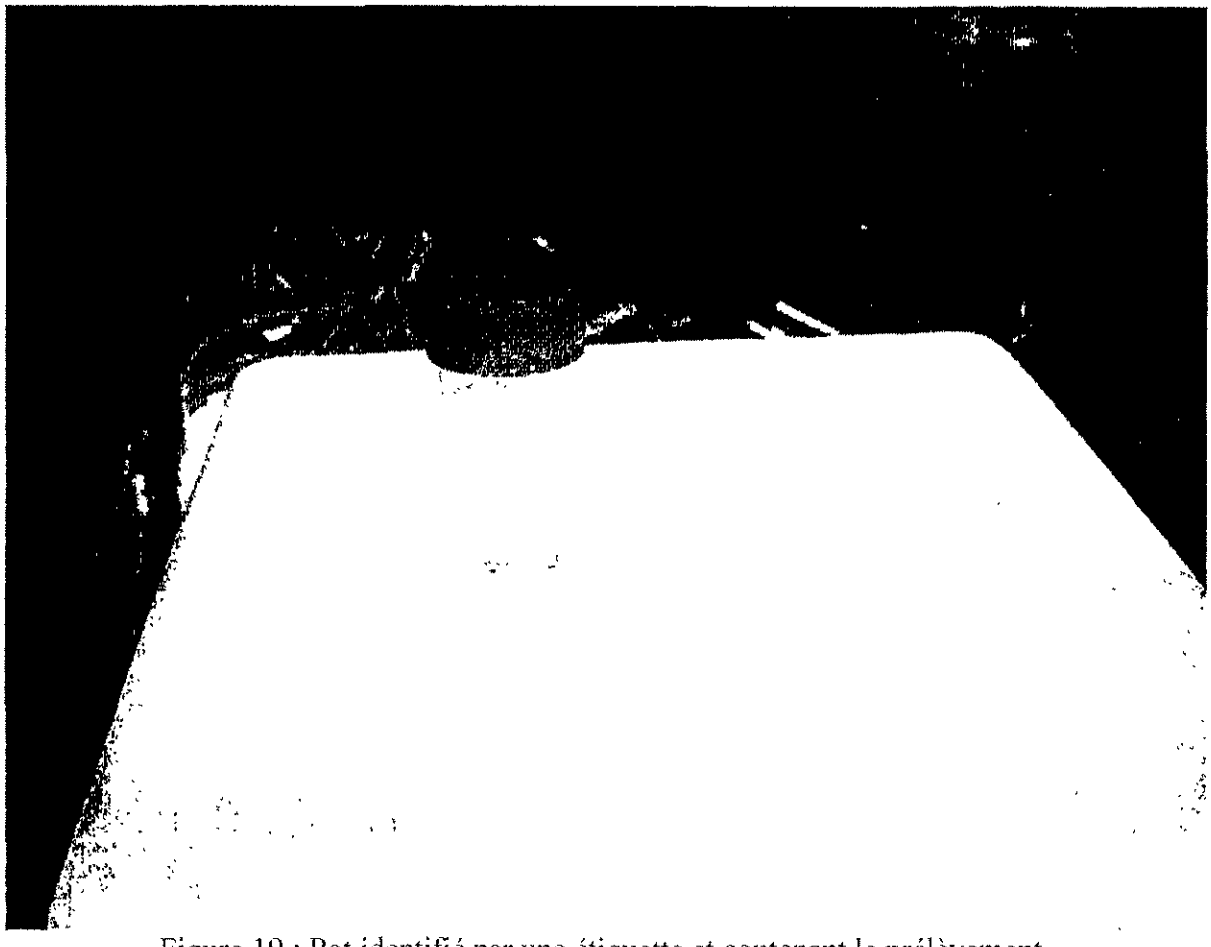


Figure 19 : Pot identifié par une étiquette et contenant le prélèvement.

2. Prises de sang

Les prises de sang sont réalisées sur tube sec, par une ponction franche à la jugulaire, à l'aide du système de prélèvement Vacutainer ®. Après séparation par centrifugation, les sérums sont stockés à –80°C avant analyse.

D. Traitement des prélèvements

1. Bactériologie générale

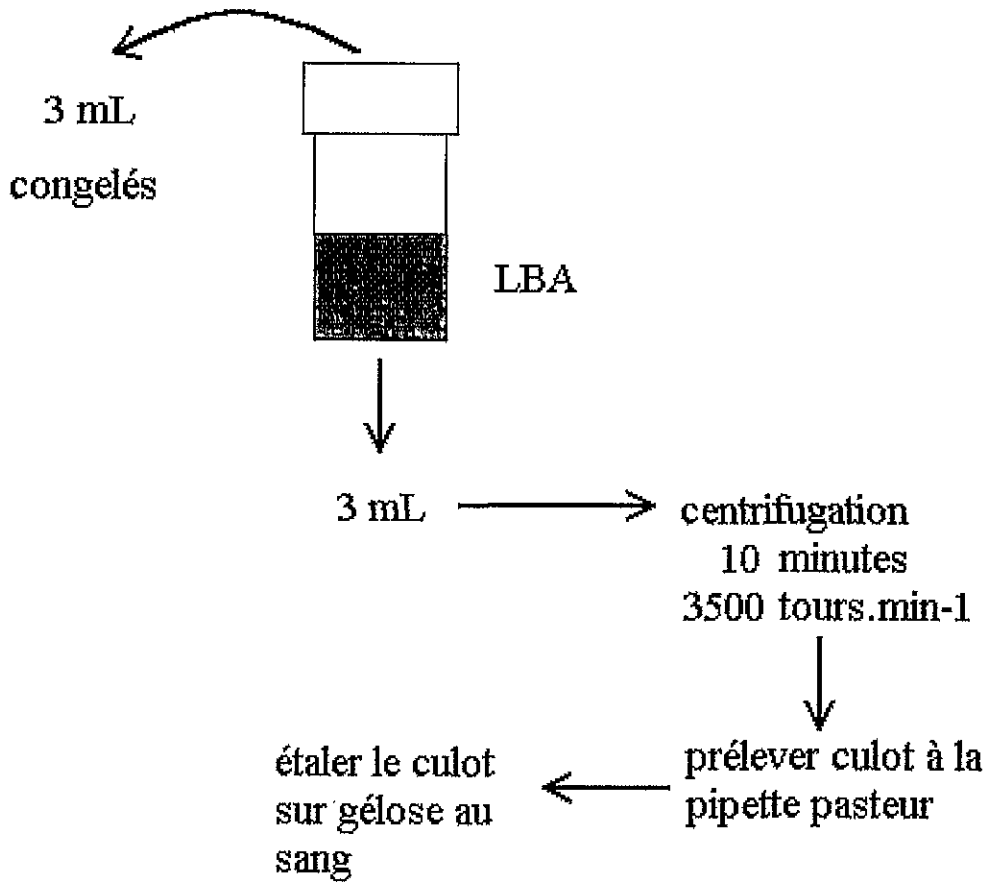


Figure 20 : Traitement des prélèvements pour la bactériologie générale

Le culot obtenu après centrifugation de 3 mL de liquide de LBA est mis en culture sur gélose au sang pour apprécier la population bactérienne. La gélose au sang est composée de gélose tripticase soja (Biomérieux) additionnée de 5% de sang de mouton (Biomérieux).

L'incubation est réalisée à 37°C, dans une atmosphère composée de 95% d'air et de 5% de CO2. L' incubation dure jusqu 'à ce que l'on observe une croissance bactérienne.

Dans un second temps, les colonies sont repiquées sur gélose au sang et mises à l'étuve normale à 37°C.

Le troisième temps concerne l'identification des colonies après repiquage. On utilise d'abord la méthode de Gram et la catalase ((tableau 5) (33)). Lorsque ces procédés étaient insuffisants, selon les résultats, on réalisait une galerie API (Biomérieux).

BACTÉRIES COLORABLES PAR LA MÉTHODE DE GRAM ET CULTIVABLES EN AÉROBIOSE

	Bacilles Gram négatif de taille moyenne							Bacilles Gram négatif de petite taille				d
Culture en 24 h sur milieux ordinaires	+				−	+	+	− +	−			+
Aspects des colonies sur milieu solide (classés par ordre de fréquence)	S R M grande taille translucides	S grandes translucides	R S M grandes translucides parfois pigmentées	S grandes translucides	S petites translucides	S Moyennes irisées	SR petites translucides	Culture sur gélose au sang ou M.spéciaux	Culture sur gélose au sang	Culture sur gélose tryptose	Culture sur milieux à l'œuf	d
Aspects microscopiques en milieu liquide ou dans les produits pathologiques (Coloration de Gram)												d
Colorations spéciales										Stamp		d
OXYDASE	⊖	⊕	⊕	⊕	⊕	⊖	(+)	d	(−)	d	−	d
CATALASE	d	d	d	d	d	d	d	d	(−)	+	+	d
FAMILLE GENRE ou ESPECE	*Enterobacteriaceae*	*Alcaligenes*	*Pseudomonadaceae*	*Vibrionaceae*	M.	A.	*Pasteurella*	*Bordetella*	*Haemophilus*	*Brucella*	*Francisella*	? *Actinomobacter* ?
					Moraxella Acinetobacter*							

* Actuellement classés parmi les coques.

BACTÉRIES COLORABLES PAR LA MÉTHODE DE GRAM ET CULTIVABLES EN AÉROBIOSE *

ORDRE LOGIQUE DE LECTURE BACTÉRIOLOGIQUE

	Coques Gram positif				Coques Gram négatif		Bacilles Gram positif				
Culture en 24 h sur milieux ordinaires	+			−	+	−	+				
Aspects des colonies sur milieu solide (classés par ordre de fréquence)	S taille moyenne opaques souvent pigmentées	S moyennes translucides	S petites transparentes	SR petites transparentes	SRM moyennes opaques translucides souvent pigmentées	SR moyennes translucides	RS grandes extensives opaques	R grandes extensives opaques	RS moyennes translucides	S moyennes translucides ↓ opaques	S petites transparentes
Aspect microscopique en milieu liquide ou dans les produits pathologiques (Coloration de Gram)											
Colorations spéciales										27°c	
OXYDASE	−	−	−	−	⊕		−	−	−	−	−
CATALASE	⊕	⊖	⊖	⊖	(+)		d	+	⊕	⊕	⊖
FAMILLE GENRE ou ESPECE	*Staphylococcus Micrococcus*	*Streptococcus D*	*Streptococcus (oralogènes)*	*Streptococcus pneumoniae*	*Neisseria commensales Branhamella*	*Neisseria meningitidis ou gonorrhoeae*	*Bacillus (sol, phylloplan)*	*Bacillus anthracis*	*Corynebacterium*	*Listeria*	*Erysipelothrix (R. du Rouget)*

* *In* : J.-L. Bourdon et N. Marchal. *Fiches de Travaux Pratiques de Bactériologie*, Paris 1969, Vezin.

Tableau 5 : Identification bactérienne (33)

2. Bactériologie spéciale

La bactériologie spéciale concerne l'isolement et l'identification des souches de Mycoplasmes à partir des liquides de lavages broncho-alvéolaires.

L'isolement se fait en milieu spécifique (Axcell Biotechnologie) selon la procédure décrite à la figure 21.

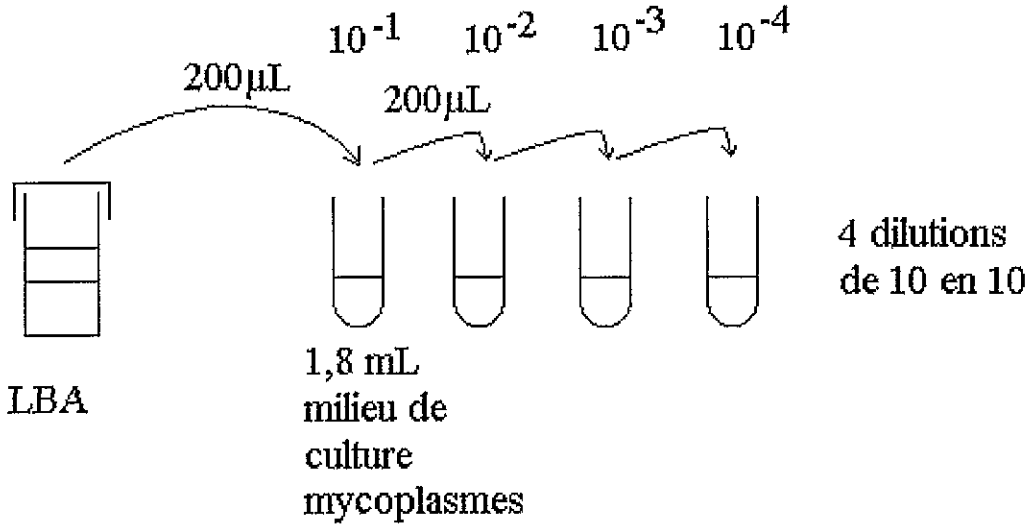


Figure 21 : Procédure pour l'isolement des Mycoplasmes en milieu liquide.

Après ensemencement, les tubes sont mis en incubation à 37°C en atmosphère composée de 95% d'air et de 5 % de CO2, pendant 7 jours. La présence d'une croissance se manifeste par l'apparition d'un trouble du milieu de culture.

Chaque culture présentant une turbidité est congelée à –80°C dans l'attente d'identification.

L'identification des espèces mycoplasmiques présentes est réalisées par MF dot (dot immunobinding on membrane filtration) (36, 21). Il s'agit d'une méthode immunoenzymatique qui repose sur la mise en évidence des antigènes externes des mycoplasmes à l'aide de sérums hyperimmuns préparés sur lapin et spécifiques des différentes espèces de Mycoplasmes à identifier (cf annexe 2).

Dans notre étude, en plus de *Mycoplasma bovis*, deux espèces fréquemment isolées chez les bovins lors de pathologies respiratoires ont été recherchées : *Mycoplasma arginini* et *Mycoplasma bovirhinis*.

3. Analyses sérologiques : recherche des anticorps anti-*M.bovis*

Pour chaque veau, les trois sérums issus des prises de sang effectuées à l'entrée (PS1), en début de maladie (PS2) et 30 à 40 jours après l'épisode respiratoire (PS3), ont été analysés à l'aide du kit « *M.bovis* séro » monocupule ELISA (Bommeli) dont le mode d'emploi est repris en annexe 3.

Les résultats sont exprimés en % de positivité.

Est considéré comme faisant une séroconversion tout animal dont la sérologie passe de négative à positive entre PS2 et PS3. Les douteux sont comptabilisés comme négatifs.

4. Analyses sérologiques : recherche des anticorps viraux RSV (virus respiratoire syncitial), Pi3 (virus parainfluenza 3) et BVD (virus de la diarrhée virale bovine).

Pour les sérologies des virus respiratoires, les kits suivants ont été utilisés :
- Kit LSI RSV ELISA indirect bicupule (Laboratoire Service International),
- Kit LSI PI3 indirect bicupule (LSI),
- Kit BVD one step ELISA compétition monocupule (LSI).

Une séroconversion a été recherchée entre PS2 et PS3 pour le RSV et la BVD, et entre PS1 et PS3 pour le Pi 3.
Pour chaque valence infectieuse, on considère que si au moins 20% des animaux font une séroconversion, le lot peut être considéré comme en phase évolutive d'infection.

E. Analyses statistiques

Les résultats ont été rassemblés en tableaux de contingence. Un test de corrélation (test du khi 2) a été utilisé.

F. Conduite de l'étude

1. Définitions

Les jours sont notés par rapport à la date de mise en lot qui correspond à JO.
Les lots concernés sont les lots où se déclenche une pathologie respiratoire.

La visite a lieu après l'appel de l'éleveur, lequel survient dès que 3 à 5% des animaux présentent les premiers signes cliniques. Dès le déclenchement de l'épisode respiratoire, les prélèvements sont réalisés dans les 8 heures suivantes et avant tout traitement.

Les signes cliniques sont définis par une température supérieure à 39°C, une baisse de la consommation alimentaire, et des signes respiratoires (de la toux, du jetage, de la polypnée, des bruits respiratoires anormaux).

2. Principe

Quinze veaux par lot ont fait l'objet :

- de prises de sang à JO (PS1), le jour de début de la maladie (JDM) (PS2) et à J+45 (PS3) (avec un délai minimal de 4 semaines après l'épisode respiratoire).

- de LBA à J début maladie. Les quinze animaux prélevés en LBA se répartissaient en 10 animaux présentant des signes cliniques (animaux malades) et en 5 animaux ne présentant pas de signes cliniques (animaux sains), en prélevant préférentiellement les animaux suivis en sérologie. Ces quotas étaient complétés, si besoin, par des animaux choisis au hasard dans le lot mais répondant aux critères « malade » ou « sain ».

3. Résumé du protocole

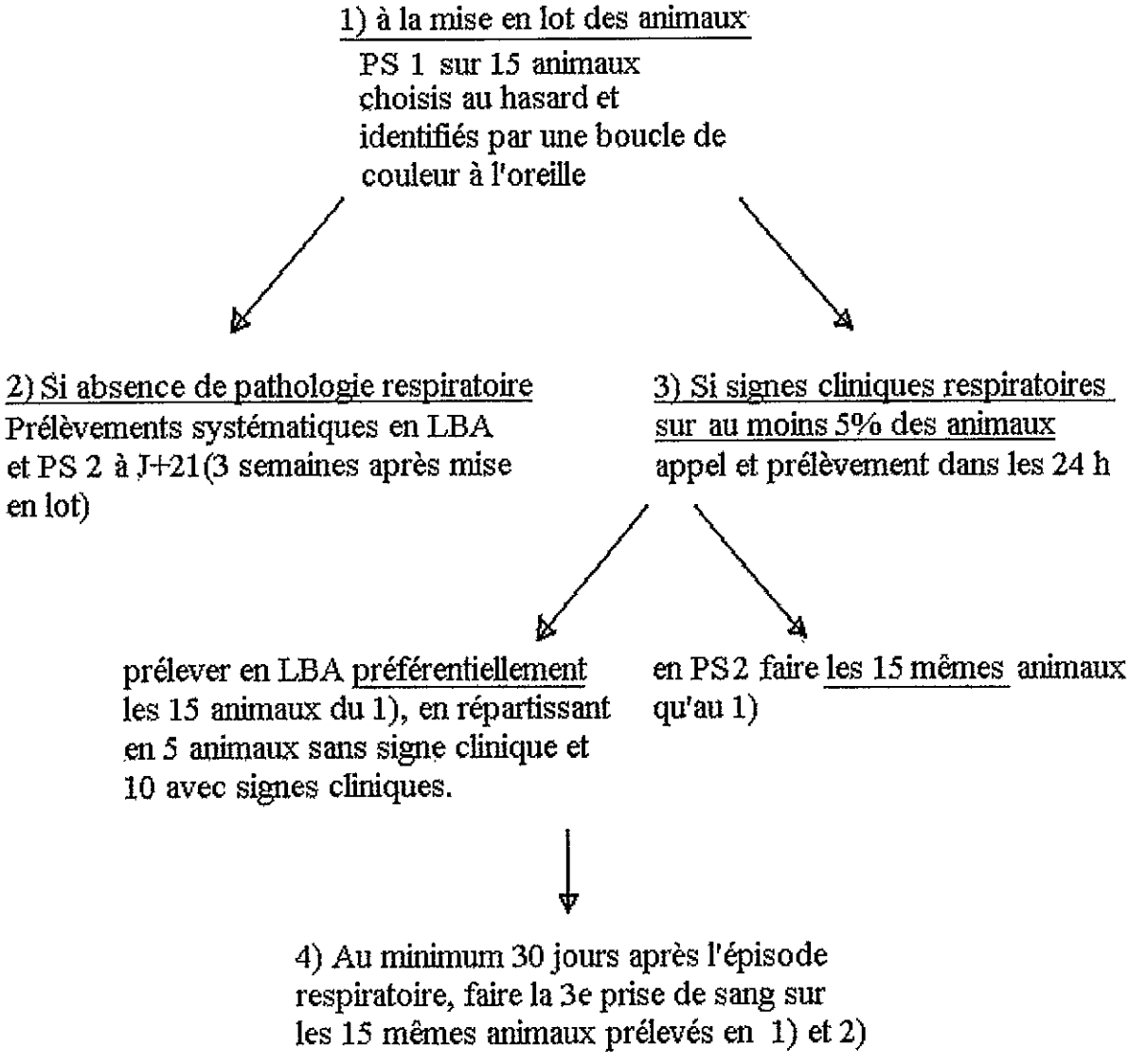


Figure 22 : Résumé du protocole

III.RESULTATS

Les tableaux des résultats bruts sont présentés en annexe 4.

A. Bactériologie sur les lavages broncho-alvéolaires

1. Bactériologie générale

On peut rassembler les différentes bactéries isolées en plusieurs groupes en fonction de leur rôles respectifs. En effet, certaines sont plutôt des saprophytes ou des commensales de l'appareil respiratoire supérieur tel que *Alcaligenes, Proteus, Chromobacterium, Acinetobacter, Bacillus, Micrococcus* et les moisissures. D'autres, comme *Enterococcus*, sont probablement des contaminants consécutifs au passage accidentel de la sonde dans l'œsophage ou dans le pharynx. *Arcanobacterium pyogenes* (anciennement *Corynebacterium pyogenes*), *Streptococcus*, *Escherichia coli* et *Aspergillus* sont des agents pathogènes plus ou moins spécifiques de l'appareil respiratoire. Le rôle des Pasteurelles est quant à lui bien connu.

Sauf quelques exceptions, on a rarement une association de plus de deux espèces à la fois.

a) Proportion des différentes espèces isolées selon les lots

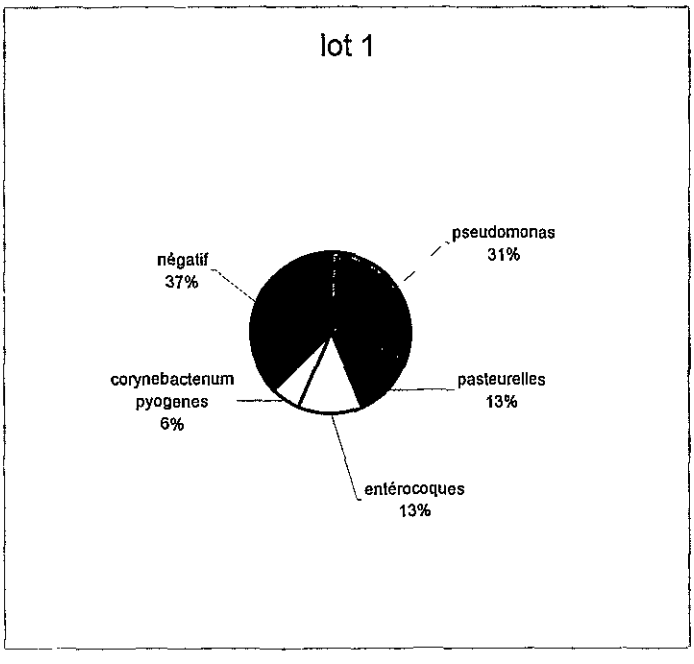


Figure 23 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 1

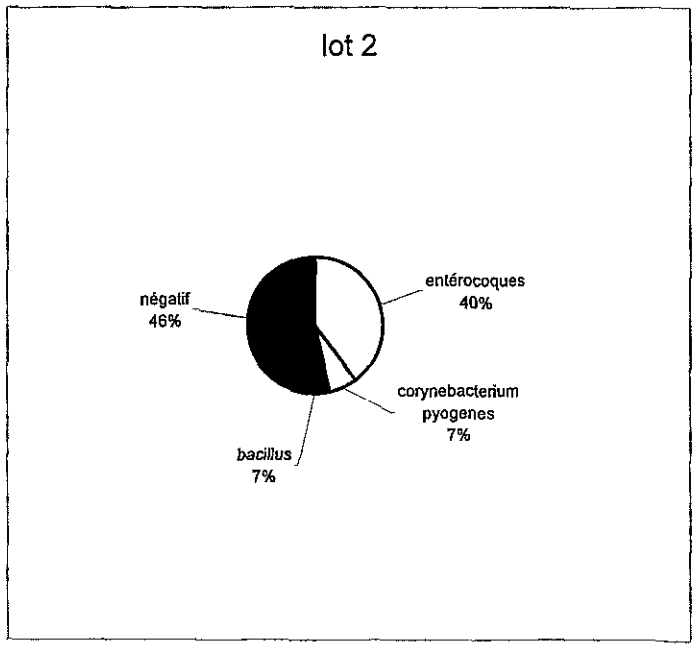


Figure 24 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 2

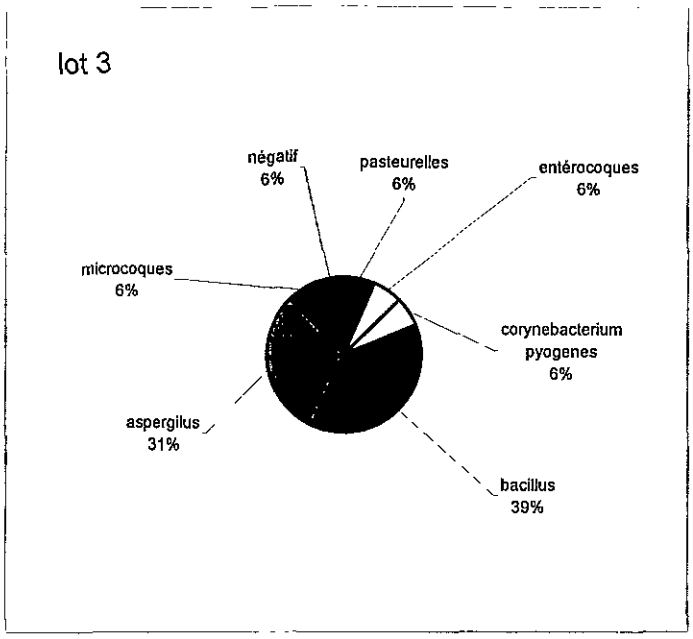


Figure 25 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 3

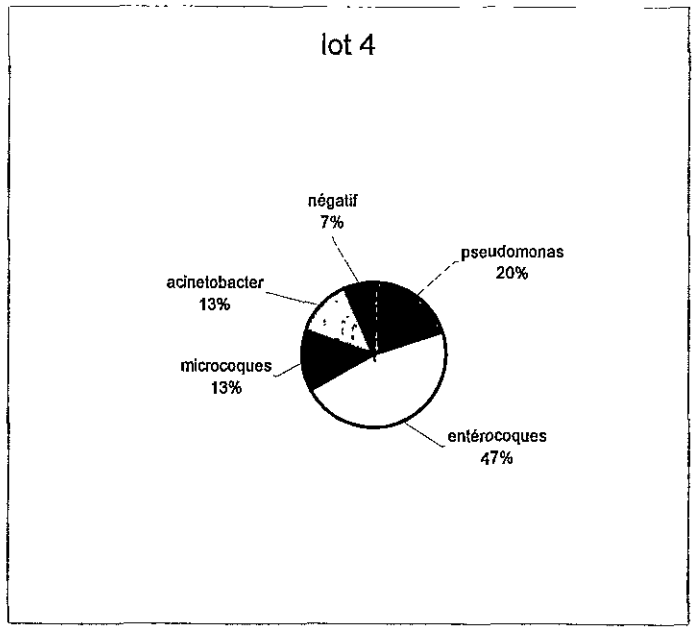


Figure 26 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 4

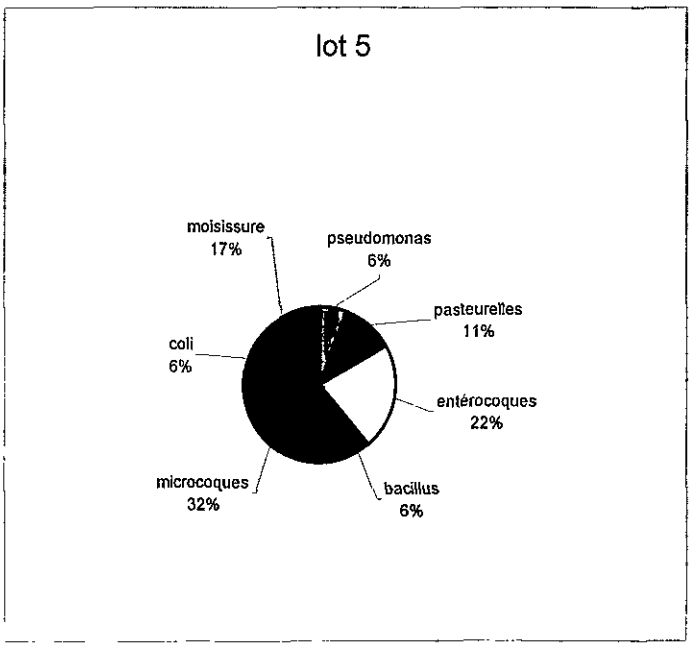


Figure 27 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 5

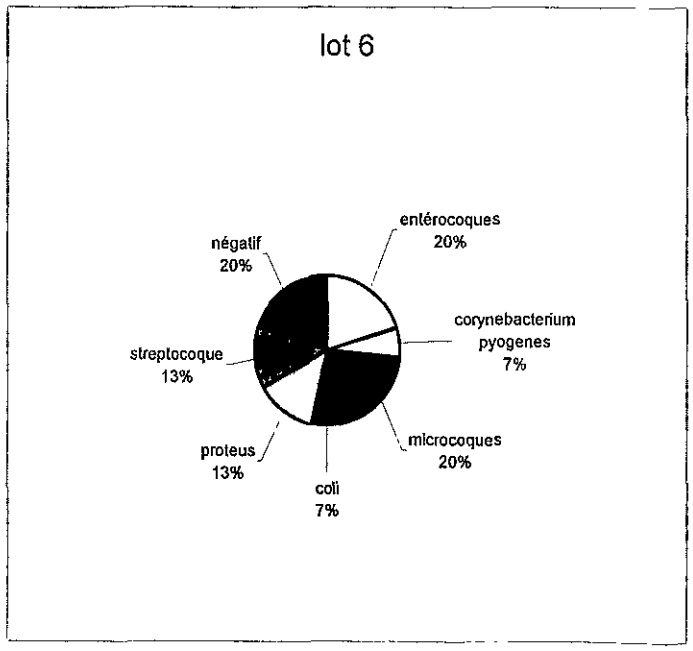


Figure 28 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 6

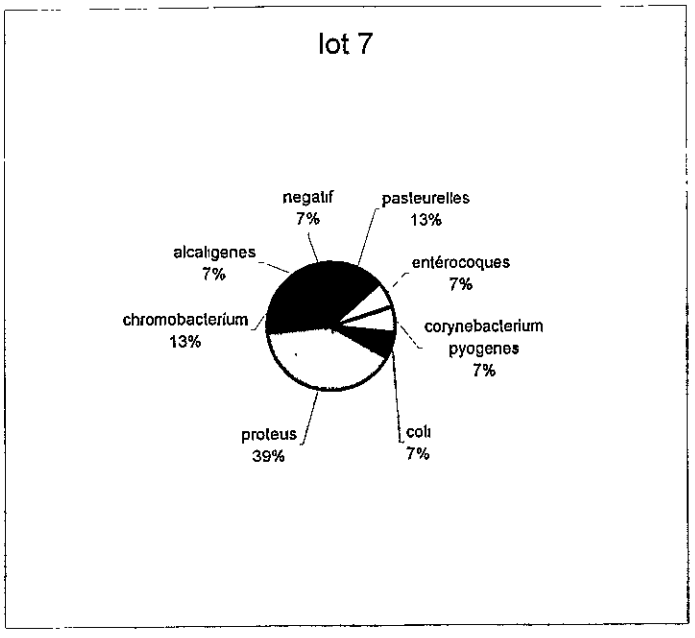


Figure 29 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 7

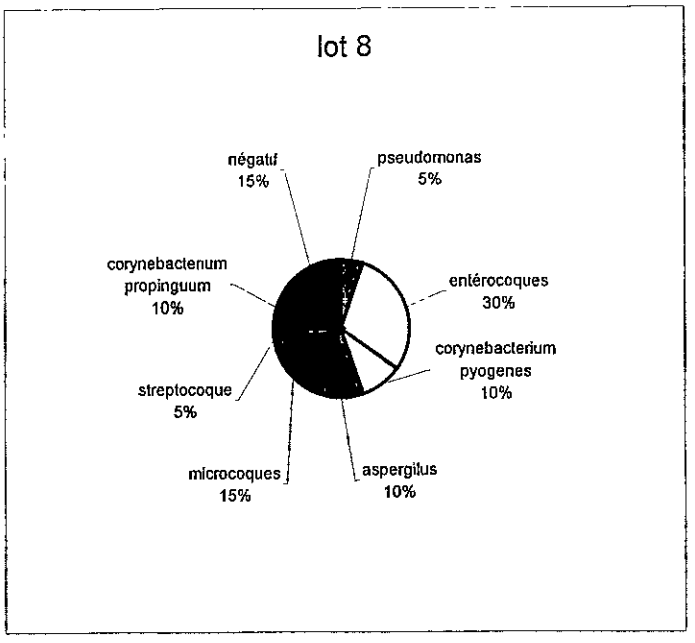


Figure 30 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 8

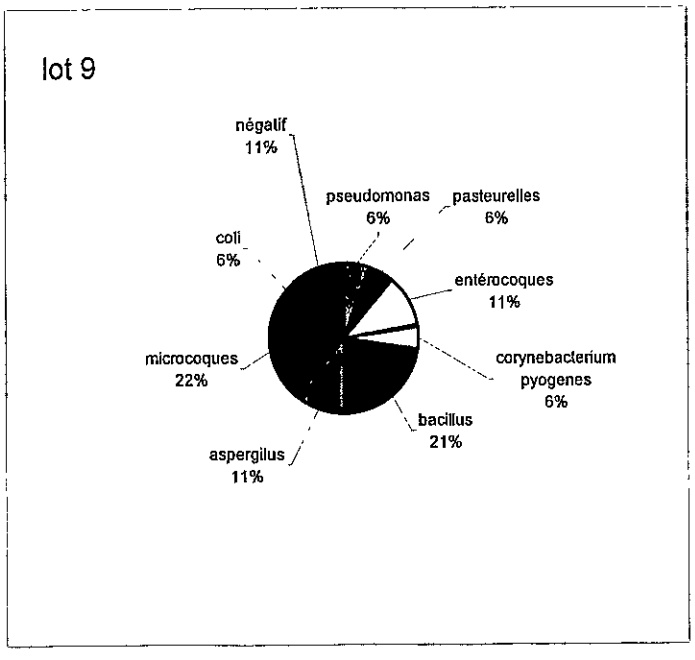


Figure 31 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 9

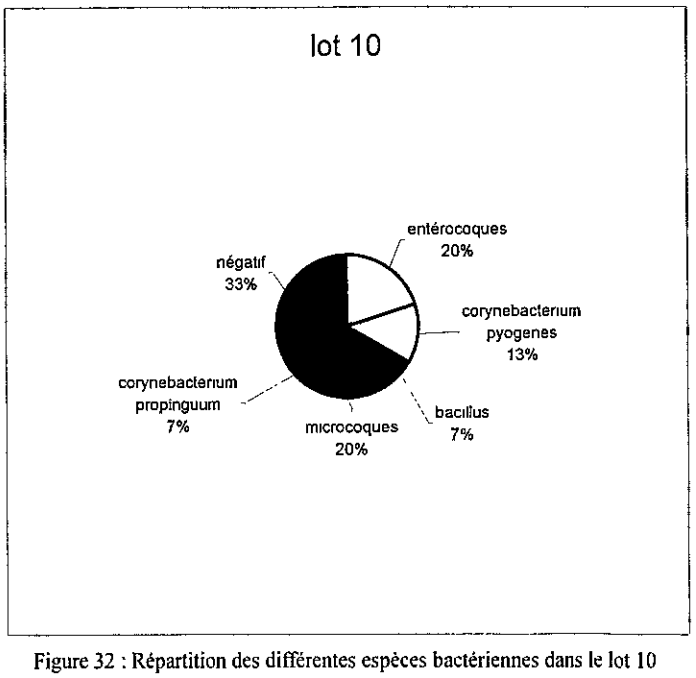


Figure 32 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le lot 10

b) Proportion des différentes espèces sur l'ensemble des lots

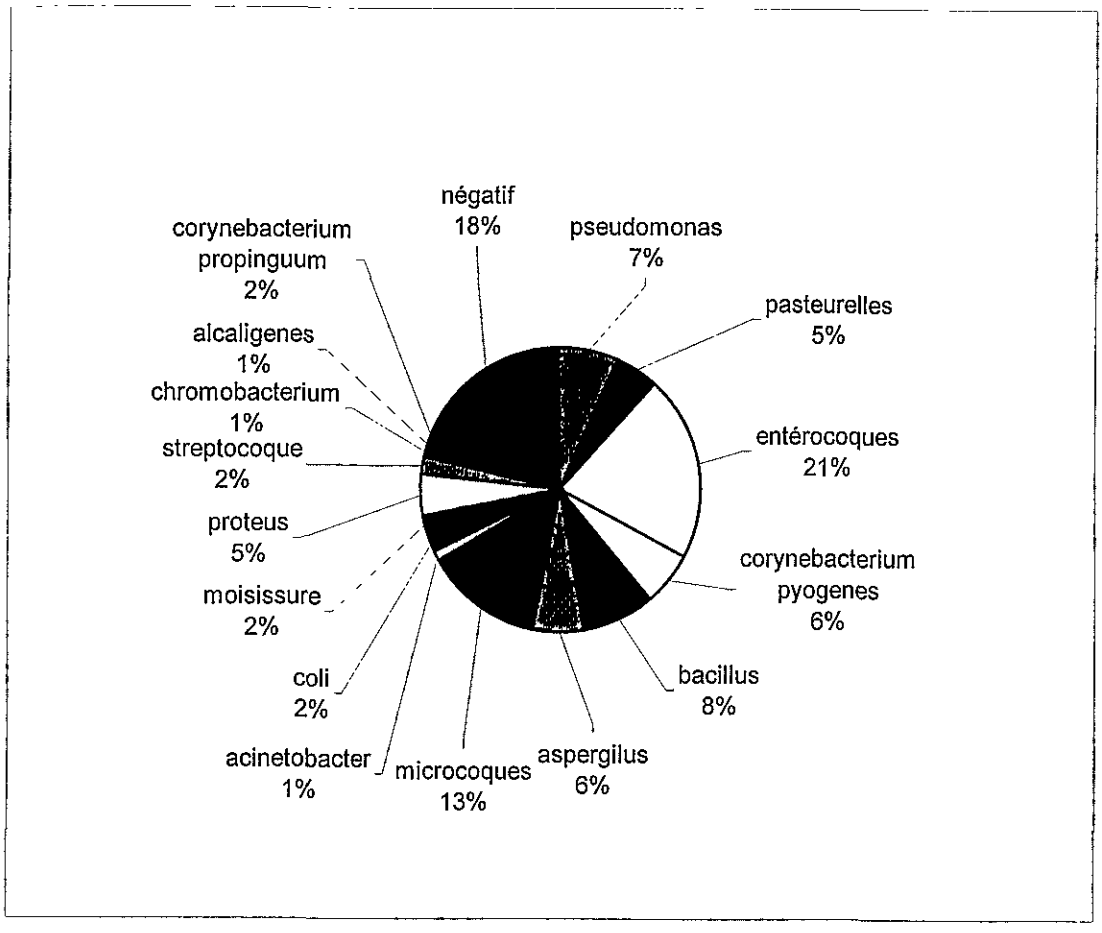


Figure 33 : Répartition des différentes espèces bactériennes pour l'ensemble des lots

On retrouve globalement peu de Pasteurelles, beaucoup d'entérocoques et de microcoques. Un cinquième des prélèvements reste stérile (0 à 46%, en moyenne 18%).

On retrouve dans nos prélèvements :

- Pour les commensaux : *Alcaligenes* (0 à 7% des animaux, en moyenne 1%), *Proteus* (0 à 39%, en moyenne 5%), *Chromobacterium* (0 à 13%, en moyenne 1%), *Acinetobacter* (0 à 13%, en moyenne 1%), *Bacillus* (0 à 39%, en moyenne 8%), *Micrococcus* (0 à 32% , en moyenne 13%), des moisissures (0 à 17%, en moyenne 2%).
- Pour les contaminants (liés aux modalités de prélèvement) : *Enterococcus,* présent dans tous les élevages (6 à 47%, en moyenne 21%).
- Pour les agents pathogènes reconnus : *Arcanobacterium pyogenes* (0 à 13%, en moyenne 6%), *Streptococcus* (0 à 13%, en moyenne 2%), *Escherichia coli* (0 à 7%, en moyenne 2%), *Aspergillus* (0 à 31%, en moyenne 6%).
- Pour les Pasteurelles : *Pasteurella multocida, Mannheimia haemolytica, Pasteurella pneumotropica,* regroupés en un groupe (0 à 13%, en moyenne 5%).

Sur les 150 lavages broncho-alvéolaires réalisés, 108 (72%) sont monospécifiques, 10 (7%) montrent l'association de deux espèces bactériennes et 2 (1%) en montrent trois. Vingt neuf LBA (20%) sont négatifs.

2. Bactériologie spéciale

M. bovis a été isolé dans 9 lots sur 10. Seul le lot n°5 s'est avéré entièrement négatif. Les lots positifs sont très atteints avec présence de *M. bovis* chez chez 67 % à 100 % des animaux.
La prévalence combinée de *M.bovirhinis* et *M.arginini* est élevée et varie de 20 à 100%.

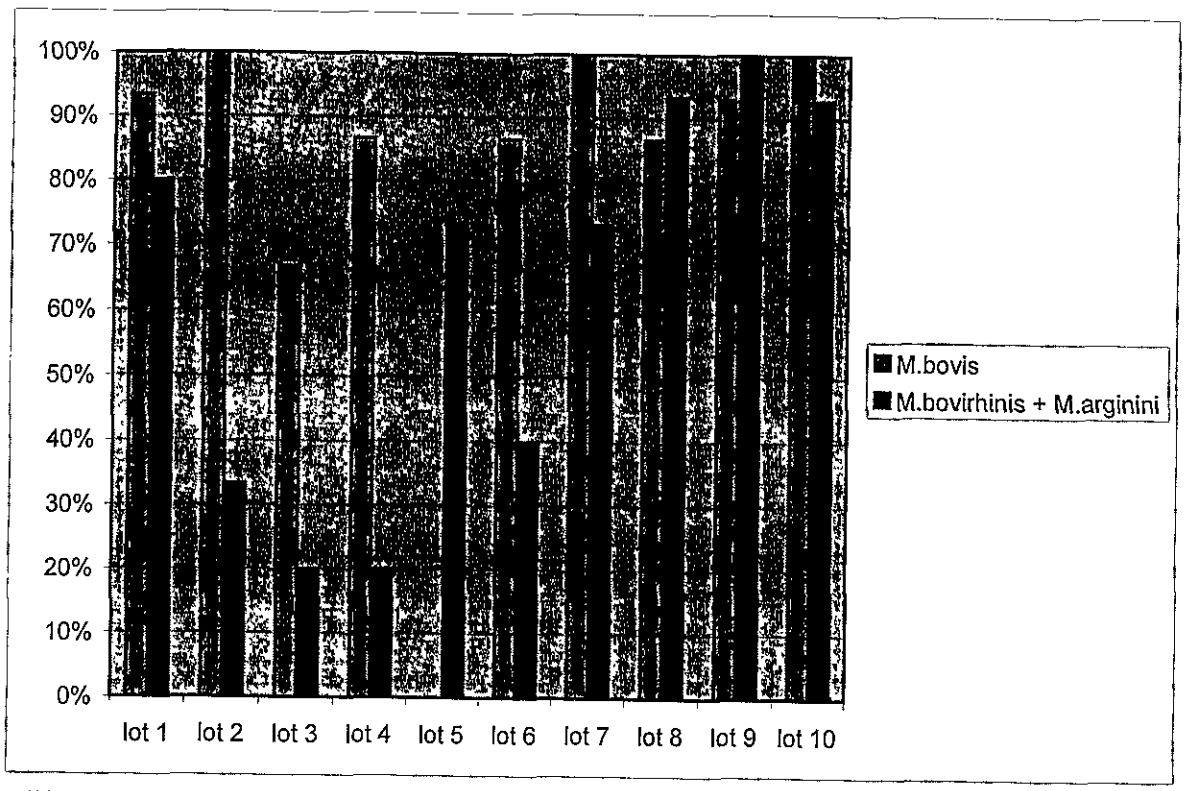


Figure 34 : Fréquence d'isolement de *M. bovis, M. arginini et M.bovirhinis* selon les lots.

En comparant la fréquence d'isolement de *M. bovis* chez les animaux « malades » et chez les animaux « sains », on n'observe pas à priori de différence (tableau 6). Cette indépendance des caractères a été confirmée statistiquement par un test du khi 2 (tableau n°7).

Comptage individuel	M.bovis/sain	M.bovis/malade
Lot 1	4/5	10/10
Lot 2	5/5	10/10
Lot 3	4/5	6/10
Lot 4	4/5	9/10
Lot 5	0/5	0/10
Lot 6	5/5	8/10
Lot 7	5/5	10/10
Lot 8	8/10	5/5
Lot 9	4/4	9/10
Lot 10	6/6	8/8
somme +	45	75
total	55	93
moyenne	82%	81%

Tableau 6 : Comptage des individus malades ou sains sachant qu'ils sont porteurs de *M.bovis*.

Tableau de contingence			
effectifs observés	sains	malades	total
+	45	75	120
-	10	18	28
effectifs calculés			
+	44,5945946	75,4054054	120
-	10,4054054	17,5945946	28
total	55	93	148
khi 2=		0,32	
khi 2 (alpha=0,05)=		3,85	
v= degré de liberté=1			
Le test est réalisable car tous les effectifs calculés dépassent 5			
k=2			
l=2			
ho = les caractères maladie et portage de *M.bovis* sont indépendants			
on ne peut donc pas conclure au rejet de HO			

Tableau 7 : Tableau de contingence et test du khi 2 pour les caractères portage de *M.bovis* et maladie.

B. Résultats des analyses sérologiques

1. Sérologies M. bovis

a) Statut des animaux à l'entrée (PS1)

Les résultats bruts sont donnés en annexe 6.

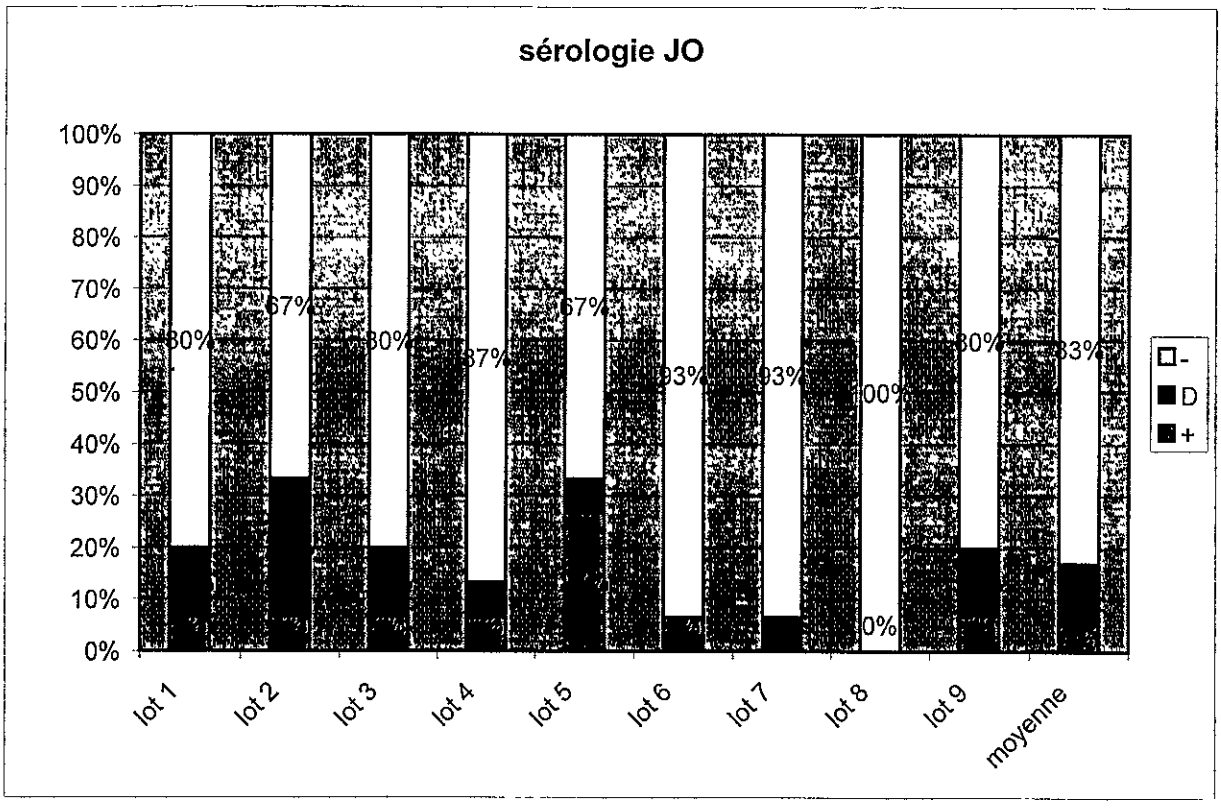


Figure 35 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs (+), douteux (D) et séronégatifs (-) à JO.

Le pourcentage d'animaux positifs lors de la mise en lot varie de 0 à 7% excepté pour le lot n°5 où l'on a 27% de veaux séropositifs (figure 35).

b) Analyse de PS2 et PS3 et pourcentage de séroconversions

Lors de la deuxième sérologie, on a sensiblement moins de séropositifs qu'au départ. Par contre, on a une augmentation évidente des taux d'anticorps entre PS2 et PS3 (figures 35 - 36).

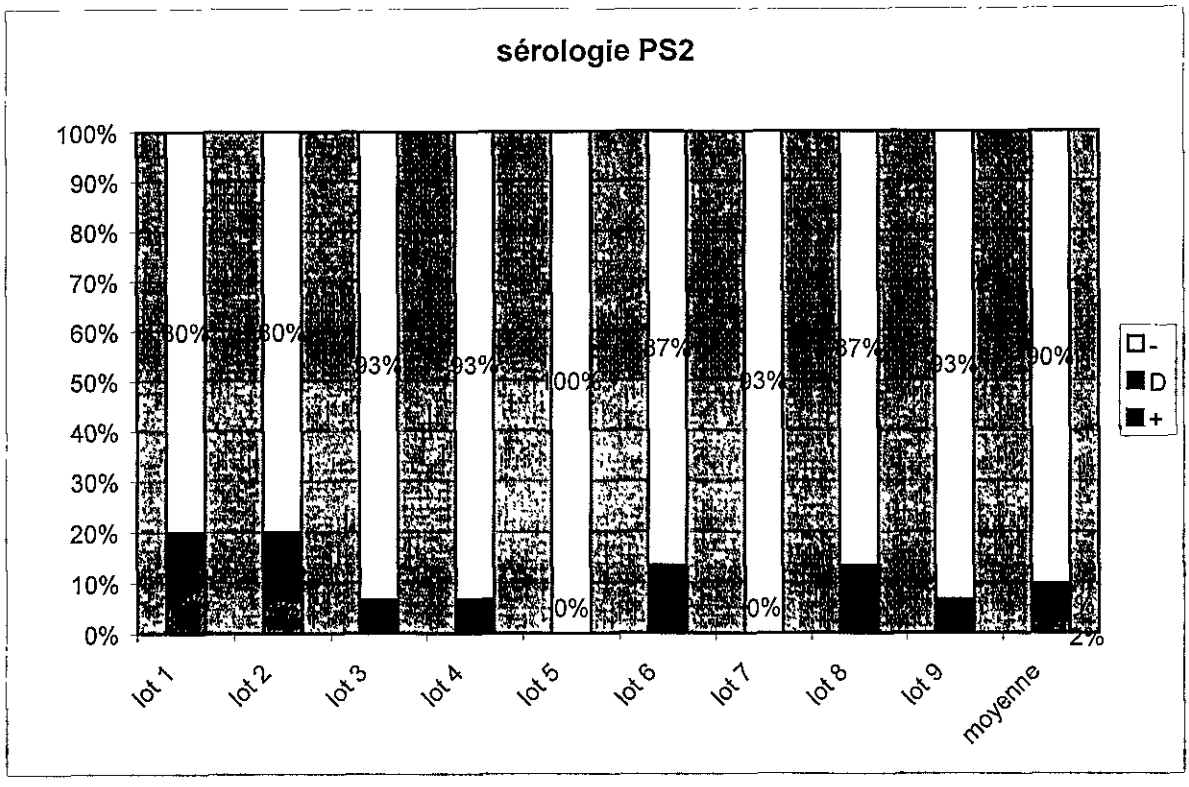


Figure 36 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs (+), douteux (D) et séronégatifs (-) à JDM.

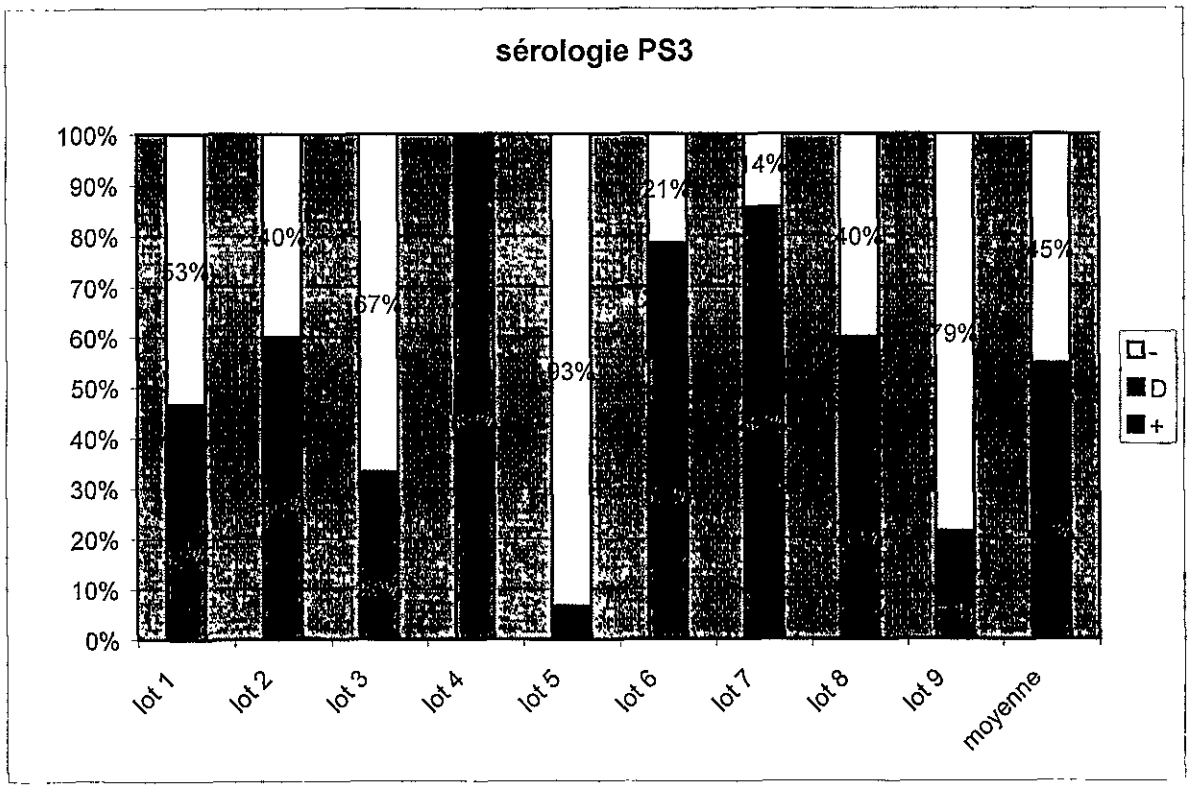


Figure 37 : Répartition par lot du pourcentage d'animaux séropositifs (+), douteux (D) et séronégatifs (-) 30 à 40 jours après JDM.

Le pourcentage d'animaux faisant une séroconversion varie de 7% à 86% exception faite du lot n°5 où aucune séroconversion n'a été observée (figure 38).

Les résultats bruts de séroconversion sont donnés en annexes 7.

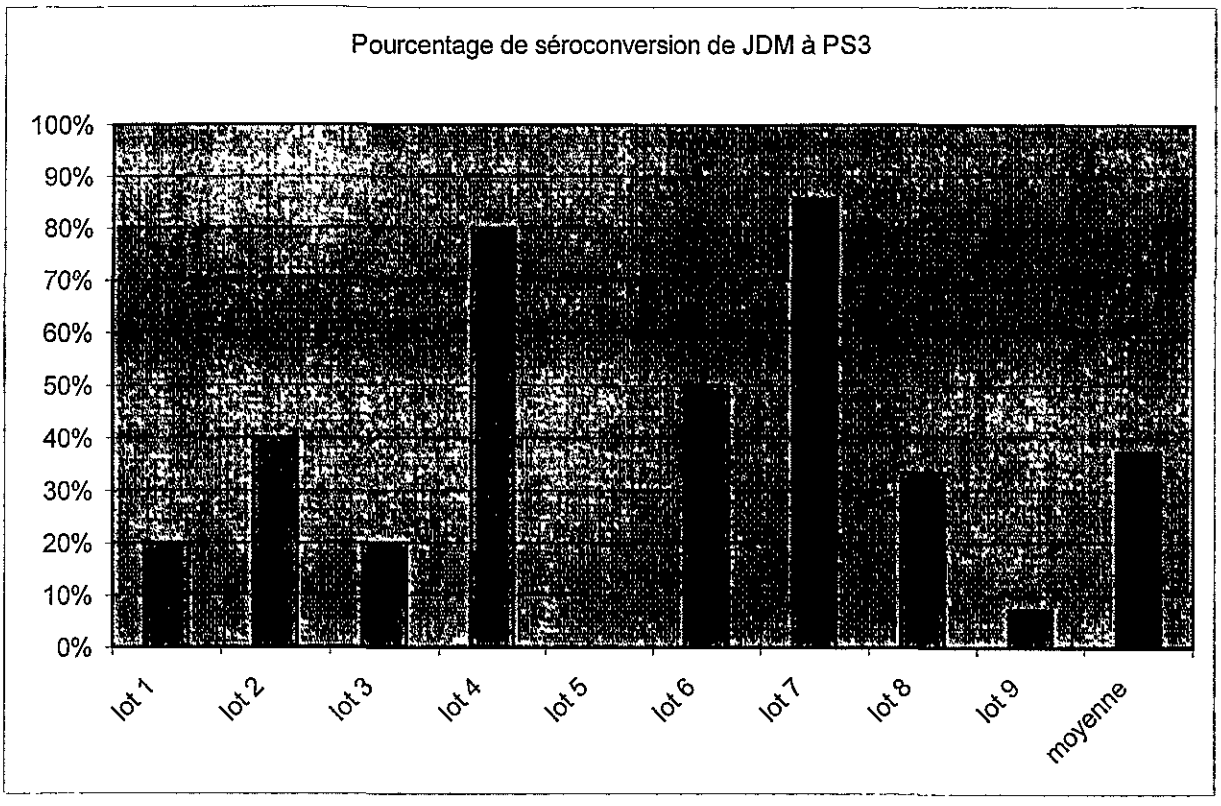


Figure 38 : Pourcentage d'animaux faisant une séroconversion selon les lots (lot 10 non testé).

Seuls 51 % des veaux chez lesquels *M. bovis* a été isolé ont fait une séroconversion (tableau 8).

	Séroconversion	Absence de séroconversion	Total	positifs/total
lot1	4	7	11	36%
lot2	7	5	12	58%
lot3	2	7	9	22%
lot4	10	1	11	91%
lot5	0	0	0	
lot6	6	5	11	55%
lot7	10	2	12	83%
lot8	4	7	11	36%
lot9	0	7	7	0%
total	43	41	84	51%

Tableau 8 : Pourcentage de séroconversion des veaux positifs à la bactériologie.

(1) Corrélation entre séroconversion et hyperthermie

On a constaté que les lots d'animaux présentant le plus fort taux de séroconversion vis à vis de *M. bovis* correspondent aux lots présentant le taux le plus élevé d'animaux en

hyperthermie (tableau 9). Cette observation a été confirmée statistiquement par un test khi 2 appliqué à ces caractères (tableau 10).

N° de lot	% d'animaux faisant une séroconversion parmi les 15 suivis en sérologie	% d'animaux faisant une séroconversion vis à vis de *M. bovis*
Lot 1	20%	20%
Lot 2	20%	40%
Lot 3	27%	20%
Lot 4	47%	80%
Lot 5	[illegible]	[illegible]
Lot 6	27%	50%
Lot 7	58%	83%
Lot 8	20%	33%
Lot 9	7%	7%
Lot 10	58%	nt

Tableau 9 : Comparaison, par lot, du taux de séroconversion et du pourcentage d'animaux faisant une hyperthermie.

effectifs observés	séroconv +	séroconv -	total
temp+	26	8	34
temp -	45	54	99
effectifs calculés			
temp+	17,6390977	15,8496241	34
temp -	52,8496241	46,1503759	99
total	71	62	133
v=1 khi 2= 10,3516401 khi 2 (alpha=0,01) = 6,63 le test est utilisable car tous les effectifs calculés dépassent 5 ho= température et séroconversion sont indépendants			
khi2 réel > khi 2 (0,01), donc on peut conclure au rejet de ho au risque 0,01 de se tromper.			

Tableau 10 : Tableau de contingence et test du khi 2 pour les caractères séroconversion et hyperthermie.

On en conclut qu'au niveau individuel, la température à JDM est corrélée avec la séroconversion vis à vis de *M. bovis*.

2. Sérologies virales (RSV, Pi3 et BVD)

Les séroconversions virales sont données en annexes 9. Elles sont variables selon les lots. Il n'y a pas d'association virale privilégiée.

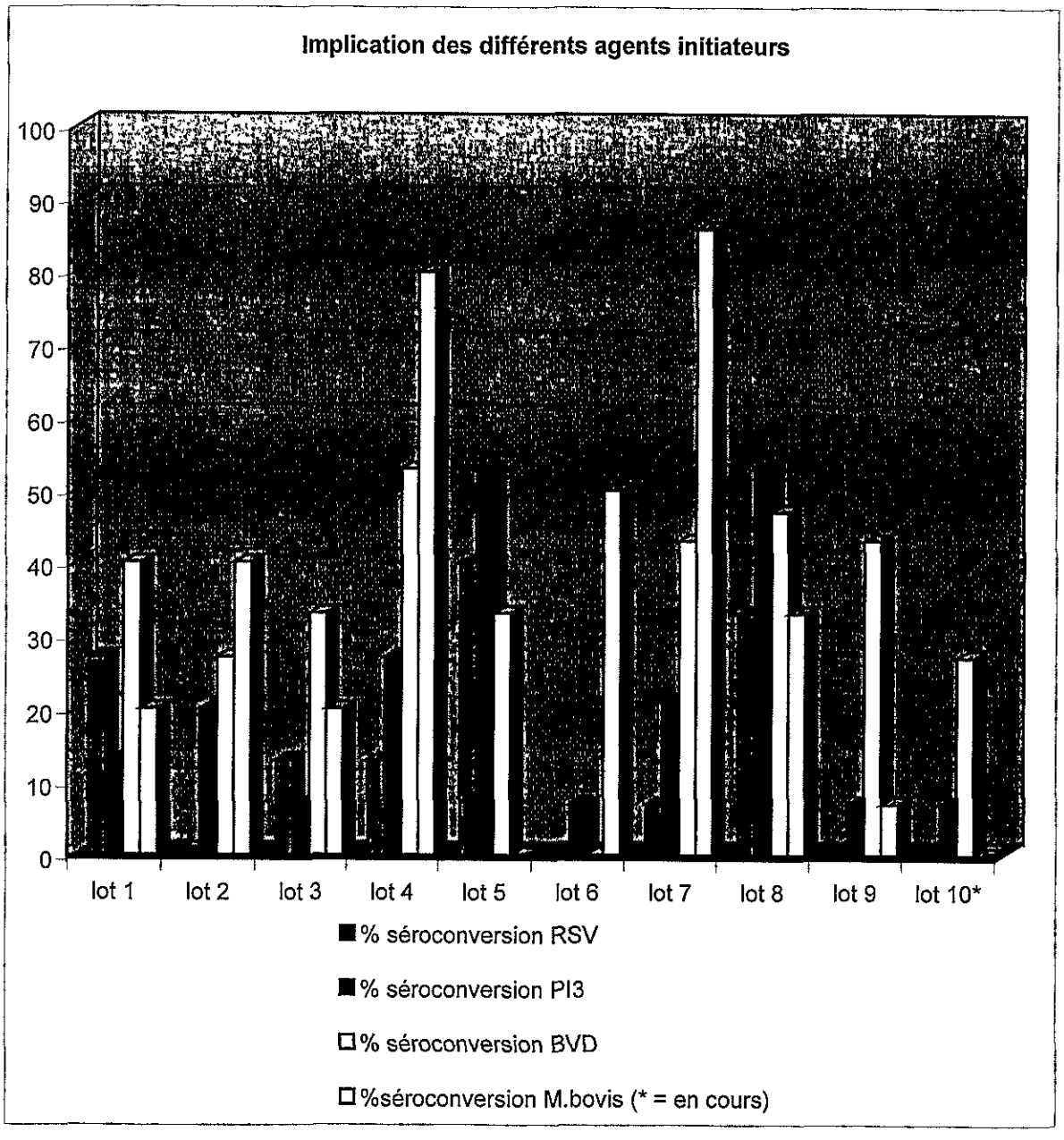


Figure 39 : Pourcentage de séroconversion des différents agents infectieux selon les lots.

IV. DISCUSSION

A. La technique du LBA

1. Rendement technique

Sur 150 prélèvements effectués, un seul n'a pu être mené à terme, l'animal présentant une difficulté respiratoire dès l'introduction de la sonde.

En moyenne 10 à 20 mL de liquide de lavage broncho-alvéolaire ont été récupérés sur chaque animal, soit environ trente pour cent, comme mentionné dans la littérature (14).

En outre, cette technique s'est révélée sur le terrain facile à réaliser, rapide (15 LBA en une heure et demi, soit 6 minutes pour chacun) et non traumatique.

2. Eventualité d'une contamination

On retrouve dans nos prélèvements :

- Des commensaux : *Alcaligenes* (en moyenne 1%), *Proteus* (en moyenne 5%), *Chromobacterium* (en moyenne 1%), *Acinetobacter* (en moyenne 1%), *Bacillus* (en moyenne 8%), *Micrococcus* (en moyenne 13%), des moisissures (en moyenne 2%).
- Des contaminants liés aux modalités de prélèvement : *Enterococcus,* présent dans tous les élevages (en moyenne 21%).
- Des agents pathogènes reconnus : *Arcanobacterium pyogenes* (=*Corynebacterium pyogenes*) (en moyenne 6%), *Streptococcus* (en moyenne 2%), *Escherichia coli* (en moyenne 2%), *Aspergillus* (en moyenne 6%).
- Des Pasteurelles (en moyenne 5%).

Les associations bactériennes sont peu fréquentes et on a :

- Souvent qu'un seul germe, dans 72% des prélèvements,
- Parfois deux espèces associées, dans 7% des prélèvements,
- Rarement trois espèces associées, dans 1% des prélèvements.
- 29 prélèvements sont restés stériles (20%).

Nos prélèvements se sont révélés moins polymicrobiens que ceux obtenus par SCHREIBER et coll. sur veaux sains (45). Dans cette étude, à l'aide de la même technique, 18 prélèvements sur 24 ont une association de deux ou plus espèces bactériennes et/ou fongiques.

Nous avons cependant constaté une forte proportion d'entérocoques (6 à 47% selon les lots) dans nos prélèvements par rapport aux autres espèces bactériennes. Ce pourcentage non négligeable pourrait s'expliquer par la contamination de la sonde lors d'un passage bref et accidentel dans le pharynx, au moment du sondage. L'incidence de cette contamination reste cependant faible.

La contamination du liquide de lavage broncho-alvéolaire par des germes présents dans la cavité nasale est une question souvent posée lorsque l'on compare la technique de LBA à celle de l'aspiration trans-trachéale. Les divers travaux publiés auxquels nous nous sommes référés laissent supposer que l'incidence de cette contamination est également minime.

Dans une étude réalisée par PRINGLE et coll. (40) la composition de la flore nasale et pulmonaire de 12 veaux sains a été comparée. Les lavages broncho-alvéolaires ont été réalisés par endoscopie par voie nasale et sans protection de l'endoscope. *Mannheimia haemolytica* ou *Pasteurella multocida* ont été isolées dans les écouvillonnages nasaux de 9 veaux sur douze alors que l'ensemble des liquides de lavages broncho-alvéolaires est resté stérile.
Pour conforter ces données bibliographiques GIRAUD, ARCANGIOLI ET LE GRAND (14) ont utilisé cette technique de lavage broncho-alvéolaire sur un échantillon d'animaux sains et d'animaux présentant une affection respiratoire.
Sur les animaux sains, les liquides de lavage sont tous restés stériles ; sur les animaux malades, la flore nasale obtenue par écouvillonnage s'est avérée différente de celle obtenue sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire.
En outre, lors d'affection respiratoire cliniquement exprimée, on peut supposer que la quantité de germes éventuellement véhiculés par la sonde est minime par rapport à celle que l'on retrouve au niveau du poumon.

Une autre étude (45) compare les résultats de bactériologie de liquides de lavages pulmonaires obtenus par les voies transtrachéale et nasotrachéale chez 24 veaux. Les résultats montrent que le liquide d'aspiration transtrachéale est stérile ou moins chargé bactériologiquement, dans 74% des cas, que le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Les lavages broncho-alvéolaires sont donc plus contaminés et ne reflèteraient pas l'image de la flore bactérienne pulmonaire. Cependant, il faut préciser que dans cette étude, l'aspiration transtrachéale précédait systématiquement le lavage broncho-alvéolaire. De plus, la charge bactérienne était particulièrement élevée et chacun des 24 animaux avait subit 5 lavages broncho alvéolaires dans le mois précédant l'étude comparative. En outre, si les prélèvements sont plus contaminés dans le cas des lavages broncho-alvéolaires, les populations bactériennes majoritaires restent celles qui étaient retrouvées dans l'aspiration transtrachéale.

La contamination du poumon par la sonde (par des germes des cavités nasales) est donc en théorie possible mais elle ne présente pas de conséquence majeure car la charge infectieuse théorique est négligeable par rapport à la flore pulmonaire.

3. Recommandations

Lors d'affections respiratoires aiguës, il convient de prélever de préférence les animaux en début d'évolution clinique (hyperthermie, jetage, toux,...) et qui n'ont subit aucun traitement. La rapidité et la simplicité de l'exécution de cette technique de lavage broncho-alvéolaire permet de réaliser des prélèvements et la mise en œuvre du traitement de façon simultanée.

Cette technique est fortement contre-indiquée chez les animaux dyspnéiques voire en détresse respiratoire.

Lorsque la sonde passe dans la cavité buccale, avec le risque d'être mastiquée, ce qui est rare, ou dans l'œsophage, ce qui est fréquent, il convient de bloquer le réflexe de déglutition en exerçant une traction sur la langue au moment du passage du carrefour laryngé.

La désinfection de la sonde, lors du passage dans l'œsophage ou entre deux animaux, s'effectue par lavage interne et externe à la chlorhexidine diluée suivi d'au moins deux rinçages internes au NaCl 0,9% stérile (14).

B. Résultats de l'étude

1. Analyses bactériologiques

a) bactériologie générale

Le pourcentage d'isolement de Pasteurelles (5%) est supérieur aux résultats de SCHREIBER et al. (45) (0%) lors de pathologie respiratoire aiguë. La différence résulte certainement de l'échantillonnage largement supérieur de notre étude (n=150 contre n=24). Ces résultats restent cependant largement inférieurs à ceux de l'étude de ALLEN et al. (2) réalisée sur des jeunes bovins de boucherie où 13% des prélèvements contenaient *Mannheimia haemolytica* et 68% *Pasteurella multocida*.

Ce faible pourcentage d'isolement s'explique d'une part par la précocité de notre intervention, en phase aiguë de l'épisode de pathologie respiratoire, durant la phase dite d'initiation, alors que la pathologie est plutôt d'étiologie virale. D'autre part, le traitement antibiotique systématique réalisé à la mise en lot (association sulfamide triméthoprime + colistine) a un spectre d'action dirigé entre autre contre les Pasteurelles.

Enfin, le pourcentage élevé d'*Aspergillus* isolés est à rapporter au mode d'élevage sur aire paillée.

b) bactériologie spéciale

Sur les 10 lots étudiés, *M. bovis* a été isolé dans 9 lots (90%). Ce résultat est largement supérieur à l'étude de POUMARAT et coll. (38) dans laquelle *M. bovis* a été isolé dans un tiers des 9 élevages de veaux non sevrés suivis et qui présentaient une pathologie respiratoire aiguë.

Selon les lots, le pourcentage d'animaux sur lesquels *M. bovis* a été isolé varie de 67% à 100%. Ces valeurs restent supérieurs à celles de Thomas et coll. (47) (50%, sur 20 veaux) et de ALLEN et coll. (2) (61%, sur 59 veaux).

Peu d'études similaires à nos travaux ont été publiées. Elles diffèrent le plus souvent par la taille des lots testés, l'absence de données lot par lot, le manque d'information sur la provenance multiple ou non des animaux, ou encore par le type de pathologie respiratoire sur laquelle les auteurs sont intervenus (le plus souvent une pathologie récurrente). Il a donc été difficile de rapprocher correctement nos résultats de ceux publiés jusqu'à ce jour.

Ces pourcentages élevés peuvent cependant s'expliquer d'une part par l'important brassage d'animaux, de provenances multiples, lors de la constitution des lots. En effet, sur 15 veaux prélevés par lot, au plus deux animaux étaient issus du même élevage. D'autre part, il existe des variations régionales quant à la prévalence de l'infection chez les troupeaux fournisseurs. Ce dernier point a déjà été mis en évidence lors de l'enquête sérologique réalisée par LE GRAND et coll. (22) sur le territoire français ainsi que par BURNENS et coll. en Suisse (8).

Ce type de production génèrent également un brassage d'individus tel qu'il pourrait expliquer la différence. En effet il est démontré dans l'étude suisse (8) que l'achat d'animaux est le seul facteur statistiquement corrélé à une prévalence plus importante de *M. bovis* au sein d'un troupeau. Un troupeau regroupant des animaux provenant de toutes les fermes des alentours a plus de chance d'être touché.

2. Analyses sérologiques

a) Sérologie *M. bovis*

A l'entrée (PS1), le pourcentage d'animaux séropositifs vis à vis de *M. bovis* varie de 0 à 27% selon les lots avec une moyenne de 8%. Cette première prise de sang a été effectuée sur des animaux de 3 semaines d'âge en moyenne, et on peut supposer qu'à cet âge les anticorps détectés sont surtout d'origine colostrale et pourraient refléter le taux d'anticorps de la population adulte. Effectivement, ce pourcentage de séropositivité est comparable à celui obtenu par POUMARAT et coll. (36) lors d'une enquête sérologique réalisée en 1988-90 et portant sur un échantillon de 3300 vaches laitières (6 à 10% selon les départements).

La baisse du nombre de veaux séropositifs à PS2, observée sur tous les lots, est à relier à une baisse des anticorps colostraux. Lors de cette seconde prise de sang, la séroprévalence est voisine de 2%.

A PS3, en revanche, en moyenne 48% des animaux sont séropositifs.

Le pourcentage d'animaux faisant une séroconversion vis à vis de *M. bovis* varie de 7 à 86%, la majorité des lots étant au dessus du seuil de 20% de séroconversion. Le lot n°5 n'a présenté aucune séroconversion et les 15 veaux prélevés étaient séronégatifs à PS3.

Ces pourcentages élevés signent une diffusion très rapide de l'infection au sein des lots, ce qui avait déjà été observé par POUMARAT et coll. (38) sur des lots de veaux non sevrés : le pourcentage moyen d'animaux faisant une montée en anticorps significative était de 50%. Les résultats de TSCHOPP et coll. (51) en Suisse ont également démontré que la prévalence, dans des lots de 17 veaux à l'engraissement, passait de 15 à 69% 49 jours après l'introduction.

Pour affirmer qu'un troupeau est en phase évolutive d'une infection, on considère qu'au moins 20% des animaux testés doivent présenter une montée en anticorps significative (POUMARAT et coll. (38)). Dans le cas de notre étude, 7 lots sur 9 dépassent les 20 % de séroconversion. On peut donc en conclure que *M. bovis* est impliqué dans le processus pathologique.

M. bovis se distingue donc par une diffusion large et rapide dans les troupeaux atteints. Selon POUMARAT et coll. (38), ce schéma épidémiologique pourrait être rapproché de celui du virus de la Rhino-trachéite Infectieuse Bovine.

Tous les veaux en hyperthermie à JDM n'ont pas fait pas une séroconversion vis à vis de *M.bovis*, mais ces deux paramètres sont corrélés.

Dans notre étude, il existe de nombreux cas d'animaux n'ayant pas présenté de séroconversion mais porteurs de *M. bovis.*
Dans le lot 9, par exemple, *M. bovis* a été isolé dans 87% des LBA mais seuls 7% des animaux ont présenté une séroconversion.

Pourtant le temps écoulé entre JDM (PS2) et PS3 est de 53 jours, ce qui est suffisant pour développer une montée en anticorps. La séroconversion implique donc forcément une infection à *Mycoplasma bovis,* mais la présence de *M. bovis* n'entraîne pas forcément une séroconversion. Pour expliquer ces résultats, on pourrait avancer comme hypothèses l'existence d'une différence de pouvoir pathogène entre les souches au travers soit de leur pouvoir d'adhésion, soit de leur pouvoir invasif.

b) Sérologies virales

Certains lots d'animaux ayant été vaccinés RSV et/ou BVD en une seule injection à JO, nous avons analysé les séroconversions vis à vis de ces valences en comparant PS2 et PS3. Nous avons considéré qu'à PS2 la montée d'anticorps liée à la vaccination était effective voire proche de son seuil. L'analyse des taux de séroconversions virales montrent une forte implication des virus BVD (9 lots sur 10 ont plus de 20% de séroconversions) et Pi 3 (5 lots sur 10) dans le processus infectieux. Le virus RSV est moins représenté (3 lots sur 10).

Par contre aucune association virale préférentielle ne prédomine, que ce soit entre les espèces virales elles-mêmes ou entre *M. bovis* et ces mêmes espèces virales.

La sérologie du virus IBR n'a pas été réalisée pour plusieurs raisons : il fait partie du dépistage obligatoire en prophylaxie, et de plus, les élevages laitiers dont sont issus les veaux de notre étude sont pour la plupart certifiés indemnes ou en cours de certification.

CONCLUSION

L'aspect multifactoriel des BPIE chez les jeunes bovins en atelier d'engraissement est bien connu actuellement. Cependant, l'implication de *Mycoplasma bovis* dans ce type de pathologie, si elle est admise, reste mésestimée.

L'étude de terrain que nous avons réalisée nous a permis d'obtenir des données sur la prévalence et l'incidence de *Mycoplasma bovis* dans un échantillonnage de veaux de boucherie provenant de l'est de la France.

La séroprévalence de l'infection à *Mycoplasma bovis* s'est révélée faible à l'introduction des animaux, mais nous avons mis en évidence une fréquence d'isolement et une incidence élevée lors d'épisodes de pathologie respiratoire.

Au delà des informations épidémiologiques que nous a fourni cette étude, elle nous a permis d'une part de mettre au point une méthode de prélèvement permettant de réaliser des LBA en grand nombre, et d'autre part de constituer une collection de souches diversifiées.

Le matériel biologique collecté devrait permettre de réaliser ultérieurement des études d'épidémiologie moléculaire ou encore des études comparatives des facteurs de pathogénécité de *Mycoplasma bovis*.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Lyon

Pour le Directeur empêché,
Le Directeur - Assesseur

Professeur J-F CHARY
Professeur Gilles BOURDOISEAU

Le Président de la thèse

Professeur A. MORIN
Laboratoire d'Anatomie
Faculté de Médecine Lyon Grange-Blanche
8, Avenue Rockefeller
69373 LYON Cédex 08

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 18 DEC. 2003

Pour le Président de l'Université
Le Président du Comité de la Formation des Etudes Médicales,
Professeur F. MAUGUIERE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

BIBLIOGRAPHIE

(1) ALLEN J., VIEL L., BATEMAN K., ROSENDAL S., SHEWEN P. (1992)
Cytological findings in bronchoalveolar lavage fluid from feedlot calves : associations with pulmonary microbial flora. Can. J. Vet. Res, 56, 122-126.

(2) ALLEN J., VIEL L., BATEMAN K.G., ROSENDAL S., SHEWEN P., PHYSICK-SHEARD P. (1991)
The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves : associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage culture. Can. J. Vet Res., 55, 341-346.

(3) AMES TREVOR R. (1997)
Dairy calf pneumonia. The disease and its impact. Vet. Clin. North Am. Food An. Pract.. 13 : 3, nov. 379-391.

(4) BARRET D.C. (2000)
Cost effective antimicrobial drug selection for the management and control of respiratory disease in European cattle. Vet. Rec. May. 545-550.

(5) BATES D.W., ANDERSON J.F. (1984)
Environmental design for a total animal health care system. Bovine practitioner. 19 : 4.

(6) BAUDET H.M., CHIEZE C., ESPINASSE J. (1994)
Un exemple de suivi clinique et microbiologique dans les maladies respiratoires des jeunes bovins. Son rôle pour une meilleure maîtrise de l'intervention thérapeutique. Rec. Med. Vet., 170 (4/5), 209-216.

(7) BERG C. (2001)
Les pasteurelloses bovines changent. Si les pasteurelloses d'aujourd'hui n'étaient plus celles d'hier.... Point vet. 214, avril, 14-15.

(8) BURNENS A.P., BONNEMAIN P., BRUDERER U., SCHALCH L., AUDIGE L., LE GRAND D., POUMARAT F., NICOLET J. (1999)
Etude sur la séroprévalence de *Mycoplasma bovis* chez la vache laitière en Suisse, en particulier dans la République et le Canton du Jura. Schweiz. Arch. Tierheilk. 141, 455-460.

(9) COCHE B. (1990)
Pathologies respiratoires des bovins. La dépêche technique. Oct..

(10) DEBRAY B. (1987)
Contribution à l'étude des BPIE des veaux de boucherie. Thèse ENVN n°13391.

(11) DOUART A. (2001)
Les pasteurelloses bovines. Aspects cliniques. Bull. GTV. N°10. 257-260.

(12) DOUART A. (2001)
Les pasteurelloses bovines. Données sur le diagnostic et le contrôle. Bull. GTV. N°10. 265-269.

(13) ESSELMONT R.J., KOSSAIBATI M.A. (1997)
Le coût des maladies respiratoires chez les jeunes femelles de race laitière. Troubles respiratoires des bovins, synthèse à partir de cas concrets. Congrès de Paris. 22.

(14) GIRAUD N., ARCANGIOLI M.A., LE GRAND D. (2002)
Le lavage broncho-alvéolaire par voie naso-trachéale chez les bovins. Bull. GTV. N°13, 9-11.

(15) GOURLAY R.N., HOUGHTON S.B. (1985)
Experimental pneumonia in conventionnaly reared and gnotobiotic calves by dual infection with *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella haemolytica*. Res. Vet. Sci., 38, 377-382.

(16) GOURLAY R.N. , THOMAS L.H., HOWARD C.J. (1976)
Pneumonia and arthritis in gnotobiotic calves following inoculation with *Mycoplasma agalactiae subsp. bovis*. Vet. Rec. 98. 506-507.

(17) GRIFFIN D. (1997)
Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. Vet. Clin. North Am. : Food Animal Pract.. Vol. 13. N° 3, Nov. 367-377.

(18) HARDWOOD D.G., OTTER A., GUNNING R. (1995)
Peracute pleuropneumonia in adult cattle. Cattle practice., 3:2, 149-152.

(19) HOUGHTON S.B., GOURLAY R.N. (1983)
Synergism between *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella haemolytica* in calf pneumonia. Vet. Rec. 41-42.

(20) JAMET J.F. (1987)
Diagnostic de laboratoire des maladies infectieuses des bovins. Méthodes utilisées au laboratoire national de pathologie bovine. Contraintes et limites. Thèse ENVL n°13590.

(21) LE GRAND D. (1996)
Variabilité antigénique membranaire de *Mycoplasma bovis*, évaluation et rôles. Thèse de 3^{e} cycle, numéro d'ordre 140-96.

(22) LE GRAND D., CALAVAS D., BRANK M., CITTU C., ROSENGARTEN R., BEZILLE P., POUMARAT F. (2002)
Serological prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in suckling beef cattle in France. Vet. Rec., March 2. 268-273.

(23) LE GRAND D., POUMARAT F., BEZILLE P. (1996/1997)
Mycoplasmoses bovines à *Mycoplasma bovis*. Point vét., vol 28, N°180, 23-30.

(24) LE GRAND D., SOLSONA M., ROSENGARTEN R., POUMARAT F. (1996)
Adaptative surface antigen variation in *Mycoplasma bovis* to the host immune response. FEMS Microbiol. Letters, 144, 267-275.

(25) LEKEUX P. (1997)
Physiopathologie pulmonaire et conséquences thérapeutiques. Troubles respiratoires des bovins, synthèse à partir de cas concrets. Congrès Paris, 243.

(26) LINDEN A., THOMAS A., MAINIL J. (1998)
Les mycoplasmes respiratoires des bovins : I Clinique, diagnostic et traitement. Ann. Med. Vet. 142. 397-404.

(27) MAINIL J., THOMAS A., LINDEN A. (1998)
Les mycoplasmes respiratoires des bovins : II Propriétés de virulence et vaccination. Ann. Med. Vet. 142. 405-410.

(28) MARTEL J.L. (2001)
La nouvelle classification des pasteurelles des ruminants. Bull. GTV. N°10. 252-254.

(29) MARTEL J.L. (2001)
Facteurs de pathogénécité des pasteurelles. Bull. GTV. N°10. 255-256.

(30) MARTEL J.L., GUERIN E., BRUNET C., SARAS E. (2001)
Diagnostic bactériologique des bronchopneumonies pasteurelliques. Bull. GTV. N°10. 261-262.

(31) NAVETAT H., SALAT O., RIZET C., BIRON P., SCHELCHER F. (1997)
Maladies respiratoires des veaux en élevage allaitant : étude critique de cas. Troubles respiratoires des bovins, synthèse à partir de cas concrets. Congrès Paris, 38.

(32) NICHOLAS R.A.J., AYLING R.D. (2003)
Mycoplasma bovis : disease, diagnosis and control. Res. Vet. Sci. 74. 105-112.

(33) PILET, BOURDON, THOMAS. (1983)
Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne.

(34) PFÜTZNER H., SACHSE K. (1996)
Mycoplasma bovis as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 15 (4), 1477-1494.

(35) POUMARAT F., LE GRAND D., BERGONIER D. (1996/1997)
Propriétés générales des mycoplasmes et hypervariabilité antigénique. Point Vét. 28, 180, 761-767.

(36) POUMARAT F., PERRIN B., LONGCHAMBON D. (1991)
Identification of ruminant *Mycoplasmas* by dot immunobinding on membrane filtration (MF dot). Vet. Microbiol., 29, 329-338.

(37) POUMARAT F., PERRIN M., BELLI P, MARTEL J.L. (1987)
Recherche des anticorps anti-*Mycoplasma bovis* dans le sérum des bovins à l'aide de la réaction d'hémagglutination passive : valeur et limites de la réaction. Rev. Med. Vet., 138, 12, 981-989.

(38) POUMARAT F., PERRIN M., GAUTHIER N., LEPAGE D., MARTEL J.L. (1988)

Pathologie respiratoire des veaux de nurserie et des taurillons. Prévalence de *Mycoplasma bovis* parmi les différentes étiologies infectieuses au travers d'enquêtes réalisées en région Rhône-alpes. Rec. Med. Vet., 164, (8-9), 625-632

(39) POUMARAT F., PERRIN B., LE GRAND D., MARTEL J.L. (1991)

Mycoplasmoses bovines. Bull. Soc. Vet. Prat. de France.. T.75, n°1, 17-38.

(40) PRINGLE J.K., VIEL L., SHEWEN P.E. ET COLL. (1988)

Bronchoalveolar lavage of cranial and caudal lung regions in selected normal calves : cellular, microbiological, immunoglobulin, serological and histological variables. Can. J. Vet. Res. 52, 239-248.

(41) RADOSTITS O.M., BLOOD D.C.

Veterinary medicine 9th edition, a textbook of health and production management of agricultural animals..

(42) ROSENDAL S., MARTIN S.W. (1986)

The association between serological evidence of Mycoplasma infection and respiratory disease in feedlot calves. Can. J. Vet. Res., 50, 179-183.

(43) SACHSE K., GRATJETZKI C., ROSENGARTEN R., HANEL I., HELLER M., PFÜTZNER H. (1996)

Mechanism and factors involved in *Mycoplasma bovis* adhesion to host cell. Zbl. Bakt. 284, 80-92.

(44) SACHSE K., HELBIG J.H., LYSNYANSKY I., GRAJETSKI C., MULLER W., JACOBS E., YOGEV D. (2000)

Epitope mapping of immunogenic and adhesive structures in repetitive domains of *Mycoplasma bovis* variable surface lipoproteins. Infect. Immun. 68, 680-687.

(45) SCHREIBER P., THOMAS A., LINDEN A., MAINIL J., COLLARD A. (2000)

Bactériologie comparée des liquides de lavage pulmonaire obtenus par voie transtrachéale ou par voie nasotrachéale chez le veau. Ann. Med. Vet. 144, 169-174.

(46) TARDY F., GOUDERT M., GUERIN E., BRUNET C., SARAS E., MARTEL J.L. (2001)

Epidémiosurveillance des deux principales pasteurelles isolées en pathologie respiratoire bovine. Bull. GTV. 10. 271-274.

(47) THOMAS A., BALL H., DIZIER I., TROLIN A., BELL C., MAINIL T., LINDEN A. (2002)

Isolation of *Mycoplasma* species from the lower respiratory tract of healthy cattle and cattle with respiratory disease in Belgium. Vet. Rec. 151, 472-476.

(48) THOMAS A., DIZIER I., NICOLAS C., SACHSE K., BALL H., MAINIL J. ET LINDEN A. (2002)

Importance de *Mycoplasma bovis* dans les pathologies respiratoires du bovin et importance de sa cyto-adhésion *in vitro*. 2ème colloque international francophone de bactériologie vétérinaire- Ploufagran France. 5-6 septembre. 115-116

(49) THOMAS A., DIZIER I., TROLIN A., MAINIL J., LINDEN A. (2002)

Comparison of Sampling procedures for isolation of pulmonary *Mycoplasmas* in cattle. Vet res. communication, 26, 333-339.

(50) THOMAS L.H., HOWARD C.J., STOTT E.J., PARSONS K.R. (1986)

Mycoplasma bovis infection in gnotobiotic calves and combined infection with respiratory syncitial virus. Vet. Pathol. 23, 571-578.

(51) TSCHOPP R., BONNEMAIN P., NICOLET J., BURNENS A. (2001)

Epidemiologische Studie der Risikofaktoren für *Mycoplasma bovis* infektionen bei Mastkälbern. Schweiz Arch. Tierheilk. Band 143, Heft 9, sept., 461-467.

(52) TULLY J.G., BOVE J.M., LAIGRET F. ET WHITCOMB R.F.

Revised taxonomy of the class mollicutes : proposed elevation of a Monophylactic Cluster of arthropod-associated Mollicutes to ordinal rank (Entomoplasmatales ord. Nov.) with provision for familial rank to separate species with nonhelical morphology (Entomloplasmataceae fam. nov.) from helical species (Spiroplasmataceae) and emended descriptions of the Order Mycoplasmatales, Family mycoplasmataceae. Int. J. Syst. Bacteriol., 43, 378-385.

(53) VIRTALA A.M.K., MECHOR G.D., GRÖHN Y.T., HOLLIS N.E., DUBOVI E.J. (1996)

Epidemiologic and pathologic characteristics of repiratory tract disease in dairy heifer during the first three month of life. JAVMA. Vol 208 (12) 2035 – 2042.

ANNEXES

Annexe 1 : Exemple de composition d'un milieu utilisé pour l'isolement de Mycoplasma bovis

Milieu liquide :

Base :

Bacto-PPLO (DIFCO)	21 g
Bacto-tryptose (DIFCO)	10 g
Glucose (Merck)	1 g
Extrait de levure (DIFCO)	5 g
Eau déminéralisée	700 mL

Cette fraction est ajustée à pH = 7,8 et autoclavée 20 minutes à 115°C.

Base avec supplément :

Base	700 mL
Extrait de levure, stérile pH = 7,8	100 mL
Sérum de cheval	200 mL
Clamoxyl (Beecham)	2g/10 mL
Acétate de thalium (solution 1%)	10 mL
Bacto ADN 0.2% (Merck)	10 mL

Milieu solide :

Le milieu solide est obtenu en ajoutant 12 g d'Agar Noble DIFCO au milieu de base (700 mL).

Annexe 2 : Protocole de réalisation du test MF dot

1 - Préparation de la plaque : (21)

Ce test est réalisé sur des plaques 96 puits Millititer GV (millipore),

- Avant utilisation, les plaques sont lavées 1 fois en solution tampon TBS** contenant 0,05 p. cent de Tween 20 (TBS-tween) puis 3 fois en solution TBS seul.
- Après chaque lavage le liquide est éliminé par aspiration à l'aide d'une pompe à vide (Millipore-modèle XX55 22050).

2- Antigène :

- Les cultures en phase exponentielle de croissance sont utilisées non diluées, sauf les bouillons très denses qui sont dilués au 1/2 ou au 1/5 avec du TBS.
- Les cultures sont réparties à raison de 200 µl par puits.
- Le milieu de culture est éliminé par aspiration à une pression de -40 à -60 KPa maintenue moins de 2 mn.

3- Blocage :

- La solution de blocage (TBS à 10 p. cent de sérum de cheval) est répartie à raison de 200 µl par cupule,
- Incubation 30 mn, en agitation lente puis filtration.

4- Anticorps :

- Les sérums polyclonaux ou les AMc sont dilués en solution de blocage (TBS à 10 p, cent de sérum de cheval) et répartis à raison de 200 µl par cupule.
- Incubation 45 mn. en agitation lente puis filtration.

5- Lavages.

- 3 lavages de 5 mn. en solution TBS-tween (agitation lente) suivis d'1 lavage de 5 mn, en TBS seul (agitation lente), 200µl par cupule.

6- Conjugué:

- Anti-immunoglobuline de lapin ou de souris marquée à la péroxydase (Fc + Fab DAKOPATT) diluée en solution de blocage respectivement au 1/250ème et au 1/600ème. Distribution de 200 µl par cupule.
- Incubation 30 mn. en agitation lente puis filtration,

7- Lavages:

(même protocole)

8- Solution de développement

- La solution révélatrice est préparée extemporanément avec : T.B.S. + 0,05 p, cent (w/v) de DAB. (tetrahydrochloride 3,3'-diaminobenzidine - Sigma) + 0,1 p, cent H202 (30%).

- Répartir 200 µl par cupule et agiter.
- L'apparition d'une coloration brune signe une réaction positive,
- La réaction est stoppée à l'eau déminéralisée, sans aspiration,
- La lecture est immédiate.

** Composition de la solution tampon T.B.S.
- tris (hydroxyméthyl aminométhane) 0,05M (Merck-Clevenot)
- NaCl 0,2M (Merck)
Ajuster le pH à 7,4 avec de l'HCl concentré (Merck).

Bommeli DIAGNOSTICS

intervet

A.18

Mode opératoire

M. BOVIS SERO

MONOCUPULE

CHEKIT®

MBS113F 19.04.02
version 0

Description du produit

CHEKIT-M. BOVIS SERO est un test immunoenzymatique (ELISA) pour la détection d'anticorps dirigés contre Mycoplasma bovis (M.bovis). Les anticorps spécifiques sont détectables dans le sérum et le plasma des bovins.

Principe et description du test

Les cupules de la plaque de microtitration du CHEKIT-M. BOVIS SERO sont sensibilisées avec l'antigène inactivé qui se lie spécifiquement aux anticorps dirigés contre M.bovis. Si l'échantillon contient des anticorps anti-M.bovis, ceux-ci se combinent avec l'antigène inactivé fixé dans les cupules. Les anticorps de l'échantillon liés aux cupules sont détectés avec le conjugué CHEKIT-anti-IgG-Ruminant marqué à la peroxydase qui oxyde la solution chromogène-CHEKIT, résultant en une coloration verte.

L'intensité de la coloration étant proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques de l'échantillon retenus dans les cupules, l'utilisation d'une seule dilution de l'échantillon à tester est suffisante.
L'évaluation diagnostique est réalisée par comparaison des densités optiques (DO) obtenues pour les échantillons et les contrôles.

Réactifs

Coffret de 10 microplaques	Vrac	
2 x 5 pcs.	à 5 pcs.	Plaque de microtitration CHEKIT-M. BOVIS monocupule sensibilisée avec l'antigène inactivé M.bovis.
1 x 0.6 ml	à 1.2 ml	Conjugué CHEKIT-Anti-IgG-Ruminant, monoclonal, marqué à la peroxidase.
1 x 0.3 ml	*à 0.3 ml*	*Témoin négatif CHEKIT-M. BOVIS.*
1 x 0.3 ml	à 0.3 ml	Témoin positif CHEKIT-M. BOVIS
3 x 100 ml	à 500 ml	Solution de dilution et de lavage CHEKIT-10x concentrée
2 x 100 ml	à 500 ml	Solution chromogène CHEKIT prête à l'emploi, à conserver à l'abri de la lumière.
1 x 60 ml	à 500 ml	Solution d'arrêt prête à l'emploi.

Conservation

Les réactifs doivent être conservés au réfrigérateur à une température entre +2°C à +8°C. **Le conjugué ne doit en aucun cas être congelé.**

Stabilité

Les réactifs non ouverts et conformément conservés sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes.

Mode opératoire

A. Opérations préliminaires

1. Equilibrer à leur température optimale le nombre de microplaques et les quantités adéquates de réactifs que l'on désire utiliser.

2. Si seulement une partie des cupules doit être utilisée, découper le film plastique recouvrant la microplaque à l'aide d'une lame de scalpel entre les cupules et le retirer soigneusement.

3. Préparer le volume nécessaire de solution de lavage et de dilution à partir du liquide CHEKIT-10x-concentré: diluer 1 volume de liquide de lavage et de dilution CHEKIT-10x-concentré avec 9 volumes d'eau distillée.
   Cette solution doit être fraîchement préparée avant chaque utilisation.
   Lorsque la solution de lavage est préparée dans des conditions stériles (c. à d. utilisation de pipettes stériles, d'eau ultra pure et de récipients stériles, prélèvements des volumes utilisés dans des conditions stériles) elle peut être conservée pendant 7 jours entre +4°C et +8°C.

B. Dilution, distribution et incubation des échantillons et des contrôles

1. Diluer les échantillons et les contrôles au 1:100 dans un tube à essais avec la solution de lavage et de dilution CHEKIT (préparée selon A.3). Distribuer 200 µl d'échantillons et de contrôles dilués dans les cupules respectives.

2. Couvrir la microplaque et incuber pendant 90 minutes (± 15 minutes) en chambre humide à température ambiante (+18°C à +25°C). Des températures d'incubation plus basses nécessitent une durée d'incubation prolongée [p.ex. au réfrigérateur (entre +2°C et +8°C) durant la nuit (entre 14 et 18 heures)].

Un exemple de distribution des échantillons sur une microplaque

	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A	N	N	7	7								
B	P	P	8	8								
C	1	1	9	9								
D	2	2	10	10								
E	3	3	11	11								
F	4	4	12	12								
G	5	5	etc.	etc.								
H	6	6										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

\+ = Antigène (+Ag)
N = Témoin négatif
P = Témoin positif
1, 2, 3, etc. = Echantillons

C. Lavage de la microplaque

Après l'incubation, la microplaque est lavée trois fois avec la solution de lavage et de dilution CHEKIT: vider les cupules de la microplaque et les remplir avec au moins 300 µl de la solution de lavage et de dilution CHEKIT. Répéter cette opération deux fois supplémentaires. Vider ensuite soigneusement les cupules de la microplaque.

D. Dilution, distribution et incubation du conjugué CHEKIT-Anti-IgG-Ruminant

1. Diluer le conjugué CHEKIT-Anti-IgG-Ruminant au 1:600 avec la solution de lavage et de dilution CHEKIT (p.ex. pour une plaque de microtitration 35 µl de conjugué + 21 ml de solution préparée selon A.3).

2. Distribuer dans chaque cupule de la microplaque 200 µl du conjugué CHEKIT-Anti-IgG-Ruminant dilué. Couvrir la microplaque et incuber pendant 90 minutes (± 10 minutes) à température ambiante (+18°C à +25°C) en chambre humide.

E. Lavage de la microplaque: voir C.

F. Distribution de la solution chromogène-CHEKIT

Distribuer dans chaque cupule 200 µl de solution chromogène-CHEKIT préalablement équilibrée entre +20°C et +25°C (il est recommandé d'équilibrer la solution de chromogène à +25°C dans un bain marie). Incuber à température ambiante (entre +18°C et +25°C, température optimale d'incubation +25°C) durant 20 minutes (± 5 minutes, voir aussi paragraphe G).

G. Lecture des résultats

Les résultats des réactions colorimétriques sont lus sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 405 nm (longueur d'onde de référence = 492 nm). Pour la validation de la manipulation, la différence des densités optiques entre les contrôles positif et négatif doit être ≥ 0.4 après 20 minutes (en fonction des conditions du test, voir note ci-dessous).

Arrêt des réactions colorimétriques: ajouter dans chaque cupule 50 µl de solution d'arrêt CHEKIT préalablement équilibrée à température ambiante. La distribution de la solution d'arrêt CHEKIT devrait se faire dans le même ordre et à la même vitesse que la distribution de la solution chromogène CHEKIT.
L'ajout de la solution d'arrêt CHEKIT dans les cupules permet simultanément d'homogénéiser la coloration.

*Note : Les 20 minutes de révélation indiquées ci-dessus donnent dans nos laboratoires des DO permettant la validation du test. Toutefois ce niveau de révélation peut être légèrement modifié par différents facteurs (qualité des lavages, précision de pipettage, conditions de température de la réaction, température de la solution chromogène, etc...). De ce fait, l'utilisateur peut être conduit à stopper la réaction quelques minutes plus tôt ou plus tard que prévu. **Voir contrôle de qualité interne Bommeli Diagnostics.***

H. Interprétation des résultats

Calculer la moyenne des valeurs de densité optique (DO) des échantillons testés en double.
Les valeurs moyennes de densité optique des échantillons ($DO_{éch}$) et du contrôle positif (DO_{pos}) sont corrigées par soustraction de la valeur moyenne de densité optique du contrôle négatif ($DO_{nég}$):

Contrôle positif: $DO_{pos} - DO_{nég}$

Echantillons: $DO_{éch} - DO_{nég}$

Les valeurs corrigées des échantillons sont exprimées en pourcentage de la valeur corrigée du contrôle positif (fixée à 100%):

$$\text{valeur échantillon} = \frac{DO_{éch} - DO_{nég}}{DO_{pos} - DO_{nég}} \times 100\ (\%)$$

valeur échantillon	< 60 %	60 % - 80 %	> 80 %
interprétation	négatif	douteux	positif

Lorsqu'un échantillon reste douteux après répétition du test, il est recommandé de reconduire l'analyse du même animal après un délai d'au moins trois semaines. Si cette nouvelle analyse conduit à nouveau à un résultat douteux, l'échantillon doit être contrôlé à l'aide d'une méthode alternative en incluant toutes les considérations d'ordre épidémiologique.

Précaution

Ce test est réservé pour **un diagnostic «in vitro»**.

Echantillons altérés
Des échantillons visiblement altérés (par ex. troubles, flocons, contamination bactérienne) doivent être exclus de l'analyse.

Contrôles
Les contrôles doivent être inclus dans chaque test et sur chaque microplaque.

Solution d'arrêt
Lorsque la solution d'arrêt est conservée à une température entre +2°C et +8°C, des précipités peuvent se former. Ils se dissolvent à température ambiante.

Formation de mousse
Eviter la formation de mousse pendant la préparation des dilutions des échantillons, des contrôles et du conjugué.

Stabilité des réactifs dilués
Echantillons, contrôles et conjugué ne se laissent pas conserver sous forme diluée. Réaliser les dilutions juste avant emploi.

Contaminations
Les quantités nécessaires de réactifs doivent être prélevées stérilement.

- **Contamination croisée**
  Changer la pointe des pipettes pour chaque prélèvement d'échantillon afin d'éviter toute contamination croisée entre échantillons. Lorsque les dilutions des échantillons sont réalisées dans des tubes à essais, chaque échantillon doit être dilué dans un tube frais.
- **Souillures**
  De minimes souillures, provenant de récipients, de distributeurs, d'instruments de lavage ou d'eau de mauvaise qualité, peuvent rendre le conjugué et le chromogène inutilisables. Tous les prélèvements de réactifs doivent être réalisés avec des pipettes à usage unique.

Les instruments automatisés sont souvent source d'erreurs. Par conséquent, en cas de problèmes, il est recommandé de faire les analyses manuellement et de comparer les résultats à ceux obtenus par voie automatisée.

M. BOVIS SERO

Valeurs de DO trop faibles
Contrôler la qualité de l'eau utilisée.
La température du chromogène ne doit pas être inférieure à +25°C.

Forte variabilité des valeurs doubles, résultats aberrants ou bruit de fond trop élevé
Forte variabilité des valeurs doubles, résultats aberrants ou bruit de fond trop élevé peuvent avoir comme origine:

- Une mauvaise homogénéisation des réactions colorimétriques par la solution d'arrêt.
- Une contamination chimique ou microbiologique des vannes, tuyaux, soupapes, etc... des instruments de lavage.
- Des erreurs de pipettage.

En accord avec les règles de GLP (Good Laboratory Practice), tout instrument automatisé (instrument de lavage, instrument de pipettage, etc...) doit être nettoyé quotidiennement conformément aux prescriptions du fabricant.
Une méthode de lavage efficace consiste à:

1. rincer vannes, tuyaux et soupapes avec de l'eau chaude
2. rincer avec la solution RBS 35 No.27952 (Pierce, Rockford, IL, USA)
3. rincer avec de l'eau distillée
4. remplir les tuyaux avec une solution eau/alcool (95/5%) et les laisser ainsi jusqu'à leur prochaine utilisation.
5. Avant utilisation, rincer l'instrument automatisé avec de l'eau puis avec la solution de lavage et de dilution CHEKIT.
6. Nettoyer quotidiennement ou remplacer les récipients contenant les réactifs et connectés à l'instrument automatisé.

Bommeli DIAGNOSTICS

DR. BOMMELI AG
Stationsstrasse 12 CH-3097 Liebefeld-Bern
Tel. +41 31 970 62 60 Fax +41 31 970 62 79
www.bommeli.com

Distribué en France par:
Intervet S.A.
Département Diagnostics Bommeli
Angers Technopole, BP 17144
F-49071 Beaucouzé, Cédex
Tél 02 41 22 83 83 Fax 02 41 22 83 00

Annexe 4 : Tableaux récapitulatifs des résultats bactériologiques et sérologiques selon les lots.

Lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +9		PS J+57	
				M. bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
1 (lot de 100 à 120)	1	7027120161	Pseudomonas stutzeri	+	+	0,18	-	0,92	+	2,29	+
	2	8840612667	Pseudomonas stutzeri	+	+	-0,01	-	0,2	-	-0,36	-
	3	2543824196	Pseudomonas stutzeri	+	+	0,19	-	0,43	-	-0,3	-
	4	2539861115	Pseudomonas + enterocoque	+	+	0,14	-	0,34	-	-0,21	-
	5 Sain	7043833437	Enterocoque	+	-	0,16	-	0,09	-	-0,13	-
	6 Sain	5245411642	négatif	-	-	0,38	-	0,47	-	0,7	D
	7	7043503058	Pasteurella spp	+	+	0,74	D	0,41	-	0,8	D
	8 Sain	2532556880	négatif	+	-	-0,32	-	0,19	-	1,58	+
	9 Sain	3911552470	Pasteurella haemolytica	+	+	-0,36	-	-0,44	-	2,62	+
	10Sain	7032937331	négatif	+	+	0,57	-	0,86	+	2,64	+
	11	7045481070	négatif	+	+	0,73	D	0,37	-	-0,21	-
	12	7024517461	négatif	+	+	0,48	-	0,76	D	0,55	-
	13	2536998265	négatif	+	+						
	14	3545239021	Corynebacterium pyogenes	+	+						
	15	3922141766	Pseudomonas stutzeri	+	+						
	-	7042770257	nt	nt	nt	0,44	-	0,01	-	2,51	+
	-	7024647522	nt	nt	nt	0,84	+	0,55	-	0,15	-
	-	7023322395	nt	nt	nt	-0,13	-	-0,36	-	-0,09	-

Lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +10		PS J+52	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
2 (lot de 75)	1	2536651350	Enterocoque	+	-	-0,23	-	-0,15	-	0,93	+
	2 sain	2526025377	Corynebacterium pyogenes	+	-	-0,2	-	-0,14	-	1,65	+
	3	2136256994	négatif	+	-	0,71	D	0,71	D	2	+
	4 sain	2534601316	Bacillus	+	-	-0,44	-	-0,35	-	-0,17	-
	5 sain	2133341141	négatif	+	+	1,05	+	0,45	-	2,36	+
	6	2537136466	Enterocoque	+	-	-0,37	-	0,31	-	-0,14	-
	7	3917710279	Entérocoque	+	-	0,77	D	0,96	+	-0,31	-
	8 sain	2535928147	Enterocoque	+	-	0,61	D	0,26	-	0,32	-
	9 sain	2542753633	Enterocoque	+	+	0,43	-	0,34	-	1,96	+
	10	3914970249	Enterocoque	+	+	0,5	-	0,14	-	-0,05	-
	11	3936047403	Négatif	+	-	-0,55	-	-0,36	-	3,73	+
	12	2532441535	négatif	+	-	0,65	D	0,6	D	0,98	+
	14	3919502433	négatif	+	+						
	15	2535003331	négatif	+	-						
	16	2133329593	négatif	+	+						
	-	2543413646	nt	nt	nt	-0,19	-	-0,25	-	-0,1	-
	-	2543446850	nt	nt	nt	0,29	-	0,01	-	0,78	D
	-	2538916512	nt	nt	nt	0,24	-	0,2	-	0,86	+

Lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +8		PSJ +41	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
3 (lot de 162)	1	3922210205	Aspergillus	-	-	0,71	D	0,06	-	1,04	+
	2	8840607575	Corynebacterium pyogenes	+	-	-0,23	-	-0,31	-	0,23	-
	3	3917670341	Aspergillus	+	+	0,07	-	-0,06	-	1,71	+
	5	7401947416	Bacillus	+	-	0,48	-	0,26	-	-0,26	-
	6 sain	3933580212	Pasteurella pneurnotropica	+	-	0,05	-	-0,1	-	0,72	D
	7	2133359706	Aspergillus/Bacillus	+	-	-0,48	-	-0,42	-	1,93	+
	8 sain	3925560235	Bacillus	+	-	0,58	-	0,08	-	0,65	D
	9	2545836270	négatif	+	-	-0,13	-	-0,25	-	-0,29	-
	10	3931920453	Aspergillus	-	-	0,07	-	0,21	-	-0,21	-
	11sain	3935771285	Bacillus	+	+	0,79	D	0,73	D	0,24	-
	12	3933571028	Bacillus	-	-	-0,28	-	-0,38	-	0,12	-
	13sain	7046430020	Microcoque	-	-	0,4	-	-0,06	-	-0,42	-
	14sain	3915125748	Enterocoque	+	-	1,17	+	0,48	-	-0,07	-
	15	8840632577	Bacillus	+	-						
	16	2526146534	Aspergillus	-	+						
	-	2538564448	nt	nt	nt	0,43	-	-0,1	-	0,45	-
	-	3936970307	nt	nt	nt	-0,25	-	-0,31	-	-0,29	-

Lot N°	Veau No		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +10		PSJ +69	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
4 lot de 129	1 sain	7102752622	Microcoque	+	-	0,02	-	-0,08	-	1,37	+
	2	7401836635	Enterocoque	+	-	-0,08	-	-0,06	-	1,49	+
	3 sain	3802349629	Pseudomonas	+	-	0,24	-	0,21	-	1,17	+
	4 sain	7401937185	Enterocoque	+	-	0,14	-	0,1	-	1,22	+
	5 sain	7401832881	Enterocoque	-	-	0,22	-	0,1	-	1,13	+
	6	7301684424	Enterocoque	+	-	0,36	-	0,11	-	0,75	D
	7 sain	7301672675	Microcoque	+	-	0,64	D	0,46	-	1,17	+
	8	7401962469	Enterocoque	+	-	0,08	-	0,04	-	1,29	+
	9	7401962583	Pseudomonas	+	-	0,25	-	0,23	-	1,4	+
	10	6950251296	Pseudomonas	+	-	0,04	-	0,09	-	0,91	+
	11	7301684425	Enterocoque	+	-	-0,13	-	-0,19	-	1,23	+
	13	5247615476	Acinetobacter	+	+	1	+	0,63	D	1,29	+
	14	4240680596	Acinetobacter	+	+						
	15	4240731072	négatif	-	+						
	16	2548071489	Enterocoque	+	-						
		7036764757	nt	nt	nt	-0,3	-	-0,27	-	2,02	+
		7301687137	nt	nt	nt	-0,12	-	-0,14	-	0,7	D
		7301693258	nt	nt	nt	0,17	-	0,24	-	1,12	+

Lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +13		PSJ +72	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
5 (lot de 70)	1 sain	7401921146	Microcoque		-	0,11	-	-0,08	-	0,4	-
	2	7401868549	Coli	-	+	0,01	-	-0,01	-	0,02	-
	3 sain	7301700697	Enterocoque	-	-	0,83	+	0,37	-	0,32	-
	4 sain	2601112938	microcoque	-	-	0,32	-	0,09	-	-0,04	-
	5 sain	802398837	Pasteurella haemolytica	-	-	0,49	-	0,26	-	0,2	-
	6 sain	4340440524	microcoque	-	+	0,88	+	0,38	-	0,62	D
	7	2602289746	moisissure+enterocoque	-	+	0,56	-	0,52	-	0,33	-
	8 sain	6950210381	moisissure+microcoque	-	+	0,33	-	-0,1	-	-0,16	-
	9	4240764531	enterocoque	-	+						
	10sain	6950178719	bacillus	-	+	0,97	+	0,43	-	-0,04	-
	11	6336532097	microcoque	-	+						
	12	7401838779	microcoque	-	+						
	13	7401933810	Pasteurella haemolytica	-	+						
	14	7401954557	pseudomonas	-	+						
	15	6950210402	moisissure+enterocoque	-	+						
	-	6950221397	nt	nt	nt	-0,18	-	-0,29	-	-0,02	-
	-	6950244185	nt	nt	nt	0,72	D	0,39		0,17	-
	-	3802395830	nt	nt	nt	-0,42	-	-0,32	-	0,48	-
	-	7401896386	nt	nt	nt	0,21	-	-0,16	-	0,03	-
	-	3802416713	nt	nt	nt	0,09	-	-0,15	-	-0,11	-
	-	7401958590	nt	nt	nt	0,83	+	0,29	-	0,14	-

Lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +12		PSJ +42	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
6 (lot de 50)	1 sain	3921421571	Proteus	+	+	-0,19	-	-0,38	-	0,7	D
	2	3929570322	Proteus	+	+	0,57	-	-0,06	-	0,94	+
	3	3912270299	Escherichia coli	+	+	0,15	-	-0,04	-	0,57	-
	4	7120543256	Enterocoque	+	-	-0,06	-	-0,05	-	0,54	-
	5	3917670344	Streptocoque	+	-	0,52	-	0,26	-	0,99	+
	7 sain	3936997689	Microcoque	+	+	0,36	-	0,45	-	1,13	+
	8 sain	2544399087	négatif	+	+	-0,4	-	-0,42	-	0,75	D
	9	3916231910	Enterocoque	+	-	-0,02	-	-0,09	-	1,38	+
	10sain	3916231909	négatif	+	+	1,13	+	0,63	D	0,74	D
	11	7021184718	Enterocoque	-	-	0,05	-	0,01	-	1,16	+
	12sain	3936970313	Streptocoque	+	-	0,07	-	-0,18	-	0,84	+
	13	3911080313	Arcanobacterium pyogenes	+	-	0,32	-	0,6	D	1,01	+
	14	3931890451	Microcoque	-	-	0,03	-	0,13	-	mort	
	15	3935790388	Microcoque	+	-						
	16	7401966158	négatif	+	-						
	-	2543391572	nt	nt	nt	0,4	-	0,34	-	0,91	+
	-	3935790389	nt	nt	nt	0,24	-	0,42	-	0,45	-

lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +9		PS J+42	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
7 (lot de 100)	1 sain	7120643924	Chromobacterium	+	+	-0,35	-	-0,32	-	0,93	+
	2	8840632604	Proteus	+	+	0,56	-	0,07	-	1,7	+
	3 sain	3937941066	Chromobacterium	+	+	-0,07	-	-0,29	-	0,53	-
	4	3927051234	Proteus	+	+	-0,23	-	-0,1	-	0,95	+
	5	3925690364	Proteus	+	+	0,39	-	-0,15	-	1,69	+
	6	7128202727	Proteus	+	+	-0,14	-	-0,34	-	2,19	+
	7	2536793345	Pasteurelle haemolytica	+	-	0,14	-	-0,18	-	1,36	+
	8	3937058817	Escherichia coli	+	+	0,27	-	-0,23	-	1,22	+
	9	3927051242	Arcanobacterium pyogenes	+	-	0,46	-	0,14	-	1,69	+
	10	2540395577	négatif	+	+	-0,16	-	-0,28	-	0,42	-
	11	2520484671	Proteus	+	-	0,67	D	0,14	-	2,39	+
	12	3925690362	Alcaligenes luoffi	+	+	-0,24	-	-0,28	-	1,57	+
	13sain	2529252199	Proteus	+	-						
	14sain	3922110178	Pasteurella haemolytica	+	+						
	15sain	5242342379	Enterocoque	+	+						
	-	7128202730	nt	nt	nt	0,13	-	-0,06	-	1,58	+
	-	2136256606	nt	nt	nt	0,09	-	-0,23	-	2,61	+
	-	3927231809	nt	nt	nt	0,1	-	mort		mort	

lot N°	Veau N°		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO		PS JDM +19		PS J+56 (jdm+37)	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
8 (lot de 70)	1 sain	7301682254	Micrococque	-	+	0,48	-	0,65	D	0,81	+
	2 sain	4803269650	Entérocoque	+	+	0,38	-	0,75	D	0,25	-
	3 sain	4340439876	Entérocoque	+	+	0,04	-	0,32	-	0,25	-
	4 sain	5230440476	négatif	-	-	-0,2	-	0,19	-	-0,09	-
	5sain	7023477522	Aspergillus+Entéro.+Microc.	+	+	0,28	-	0,44	-	0,84	+
	6	7120733366	Pseudomonas sutzéri	+	+	-0,14	-	0,55	-	0,53	-
	7	7037268584	Arcanobacterium pyogenes	+	+						
	8	7031533646	négatif	+	+						
	9 sain	7026856210	négatif	+	+	-0,34	-	0,02	-	0,61	D
	10	6950266455	Arcanobacterium pyogenes	+	+	-0,27	-	0,05	-	0,96	+
	11	103018839	Streptocoque	+	+	-0,28	-	0,01	-	0,81	+
	12sain	7021417482	Aspergillus+Entéro. +Coryne propinguum	+	+	-0,12	-	-0,05	-	0,62	D
	13sain	103014421	Entérocoque	+	+	0,23	-	0,54	-	0,19	-
	14sain	7027962168	Entérocoque+Coryne propinguum	+	+	0,1	-	0,43	-	0,43	-
	15sain	6339403669	Micrococque	+	+	-0,04	-	0,59	-	1,11	+
	-	6950222447	nt	nt	nt	-0,2	-	0,04	-	1,1	+
	traité	4340426931	nt	nt	nt	-0,34	-	-0,14	-	0,69	D

Lot N°	Veau No		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis					
			Bactéries	Mycoplasmes		PS J0		PS JDM (J+10)		PS J+63 (53j après JDM)	
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini						
9 (lot de 100)	1 sain	7045310423	Microcoque+Aspergillus	+	+	-0,51	-	-0,51	-	0,03	-
	2 sain	7041344865	Microcoque	C	nt	0,04	-	-0,2	-	0,29	-
	3 sain	7022627112	négatif	+	+	1,17	+	0,7	D	0,64	D
	4	4303035757	Microcoque+Entérocoque	+	+	0,75	D	0,22	-	-0,28	-
	5 sain	4303039902	E.Coli + Entérocoque	+	+	0,64	D	-0,01	-	0,42	-
	6	6339553420	négatif	-	nt	0,02	-	-0,27	-	0,28	-
	7 sain	2525442075	Mannheimia haemolytica	+	+	-0,28	-	-0,52	-	0,77	D
	8	7022231662	Microcoque	+	+	0,18	-	-0,05	-	0,07	-
	9	8838001532	Bacillus	+	+	-0,35	-	-0,28	-	0,3	-
	10	7043192747	Bacillus	+	+						
	11	2532556900	Pseudomonas	+	+						
	12	4340498662	Bacillus	+	+						
	13	6950281365	Aspergillus	+	+						
	14	4340507493	Bacillus	+	+						
	15	6339133170	Arcanobacterium	+	+						
		7041866990	nt			-0,23	-	-0,33	-	0,49	-
		4302121850	nt			0,2	-	0,03	-	0	-
		4240685155	nt			-0,19	-	-0,23	-	0,38	-
		7025419711	nt			-0,2	-	0,02	-	0,82	+
		7026243829	nt			-0,37	-	-0,19	-	0,11	-
		6339153800	nt			-0,2	-	-0,05	-	non prélevé	

Lot N°	Veau No		BACTERIOLOGIE sur L.B.A.			SEROLOGIE M.bovis		
			Bactéries	Mycoplasmes		PS JO	PS JDM	PS J
				M.bovis	M.bovirhinis + M.arginini			
10 (lot de 36 veaux)	1 sain	6339833946	Entérocoque	+	+	En cours		
	2	6338683252	Corynebacterium propinguum	+	+			
	3	703103745	Entérocoque	+	+			
	4	4340533973	Entérocoque	+	+			
	5 sain	4303055521	Microcoque	+	+			
	6	6339403707	Microcoque	+	-			
	7	6339323916	Arcanobacterium pyogenes	+	+			
	8 sain	6339363674	Arcanobacterium pyogenes	+	+			
	9	6950276618	négatif	+	+			
	10	4240788761	négatif	+	+			
	11sain	6950222370	négatif	+	+			
	12	6950240017	PROBLEME	nt	nt			
	13sain	4340530476	négatif	+	+			
	14	6338933285	Bacillus+Micrococque	+	+			
	15sain	6950203238	négatif	+	+			
		4240722439	nt	nt	nt			

Annexe 5 : Tableaux de synthèse de la bactériologie générale

Tableau de résultats des isolements

lot 1	lot 2	lot 3	lot 4	lot 5	lot 6	lot 7	lot 8	lot 9	lot 10
5 Pseudomonas	6 entérocoques	5 Aspergilus	2 Micrococques	6 Micrococques	2 Proteus	2 Chromobacterium	3 micrococques	4 micrococques	3 entérocoques
2 Pasteurelles	1 corynebacterium	1 Corynebacterium	7 Entérocoques	1 Coli	1 Escherichia coli	6 Proteus	6 entérocoques	2 aspergilus	1 corynébact propingum
2 Entérocoques	1 bacillus	6 bacillus	3 Pseudomonas	4 Enterocoques	3 Enterocoques	2 Pasteurella haemolytica	3 négatifs	2 négatifs	3 micrococques
1 corynebacterium		1 Pasteurelles	2 Acinetobacter	2 Pasteurella haemolytica	2 Streptocoques	1 Escherichia coli	2 aspergilus	2 entérocoques	2 arcanobact pyogenes
		1 Micrococque		3 Moisissures	3 Micrococques	1 arcanobacterium	1 pseudomonas	1 coli	5 negatifs
		1 Enterocoque		1 bacillus	1 Arcabobacterium	1 Alcaligenes	2 arcanobact	1 mannheimia haemolytica	1 bacillus
				1 pseudomonas		1 enterocoque	1 streprocoque	4 bacillus	
6 negatifs	7 négatifs	1 negatif	1 negatif		3 négatifs	1 négatif	2 corynebact propinguum	1 pseudomonas	
								1 arcanobacterium	

Tableau de contingence de la bactériologie

	lot 1	lot 2	lot 3	lot 4	lot 5	lot 6	lot 7	lot 8	lot 9	Lot10	ensemble des lots
pseudomonas	5			3	1			1	1		11
pasteurelles	2		1		2		2		1		8
entérocoques	2	6	1	7	4	3	1	6	2	3	35
corynebacterium pyogenes	1	1	1	0	0	1	1	2	1	2	10
bacillus		1	6		1				4	1	13
aspergilus			5					2	2		9
micrococques			1	2	6	3		3	4	3	22
acinetobacter				2							2
coli					1	1	1		1		4
moisissures					3						3
proteus						2	6				8
streptocoques						2		1			3
chromobacterium							2				2
alcaligenes							1				1
corynebacterium propinguum								2		1	3
négatifs	6	7	1	1		3	1	3	2	5	29

Annexe 6 : Nombre d'animaux séropositifs (+), douteux (D) et séronégatifs (-) à PS1 (JO), PS2 (JDM) et PS3.

lot 1	sérologie jo	valeur relative	sérologie jdm	valeur relative	sérologie ps3	valeur relative
+	1	0,07	2	0,13	5	0,33
D	2	0,13	1	0,07	2	0,13
-	12	0,80	12	0,80	8	0,53
lot 2						
+	1	0,07	1	0,07	8	0,53
D	4	0,27	2	0,13	1	0,07
-	10	0,67	12	0,80	6	0,40
lot 3						
+	1	0,07	0	0,00	3	0,20
D	2	0,13	1	0,07	2	0,13
-	12	0,80	14	0,93	10	0,67
lot 4						
+	1	0,07	0	0,00	13	0,87
D	1	0,07	1	0,07	2	0,13
-	13	0,87	14	0,93	0	0,00
lot 5						
+	4	0,27	0	0,00	0	0,00
D	1	0,07	0	0,00	1	0,07
-	10	0,67	15	1,00	14	0,93
lot 6						
+	1	0,07	0	0,00	8	0,57
D	0	0,00	2	0,13	3	0,21
-	14	0,93	13	0,87	3	0,21
lot 7						
+	0	0,00	0	0,00	12	0,86
D	1	0,07	0	0,00	0	0,00
-	14	0,93	14	0,93	2	0,14
lot 8						
+	0	0,00	0	0,00	6	0,40
D	0	0,00	2	0,13	3	0,20
-	15	1,00	13	0,87	6	0,40
lot 9						
+	1	0,07	0	0,00	1	0,07
D	2	0,13	1	0,07	2	0,14
-	12	0,80	14	0,93	11	0,79

Annexe 7 : Pourcentage d'animaux présentant une séroconversion vis à vis de M. bovis entre PS2 et PS3 et entre PS1 et PS3.

séroconversion lot 1			
PS2 > PS3		PS1 > PS3	
(- > D et +) + (D > +)		(- > D et +) + (D > +)	- > +
0,33	0,20	0,40	0,33
séroconversion lot 2			
0,60	0,40	0,53	0,33
séroconversion lot 3			
0,33	0,20	0,33	0,13
séroconversion lot 4			
1,00	0,80	0,93	0,73
séroconversion lot 5			
0,07	0,00	0,00	0,00
séroconversion lot 6			
0,71	0,50	0,71	0,57
séroconversion lot 7			
0,86	0,86	0,86	0,79
séroconversion lot 8			
0,60	0,33	0,60	0,40
séroconversion lot 9			
0,14	0,07	0,14	0,07

Annexe 8 : Tableau récapitulatif de la bactériologie spécifique et de la sérologie M.bovis

		BACTERIO (sur 15 Pvts/lot)		SEROLOGIE (sur 15 Pvts/lot) *		
Elevages (taille du lot)	Echantillon testé n=	% d'animaux positif en Mb	Nombre de prélèvements positifs en Pasteurella/Mannheimia	% d'animaux séropositifs à PS1	% d'animaux séropositifs à PS2=JDM (entre J+8 et J+19)	% d'animaux séropositifs à PS3 (30j à 59j après JDM)
Elevage N°1 (100-120)	15	93%	1 Past. spp 1 Mh	7%	13%	33%
Elevage N°2 (75)	15	100%	0	7%	7%	53%
Elevage N°3 (162)	15	67%	1 Past. Pneumotropica	7%	0%	20%
Elevage N°4 (129)	15	87%	0	7%	0%	87%
Elevage N°5 (70)	15	0%	2 Mh	27%	0%	0%
Elevage N°6 (50)	15	87%	0	7%	0%	57%
Elevage N°7 (100)	15	100%	2 Mh	0%	0%	86%
Elevage N°8 (70)	15	87%	0	0%	0%	40%
Elevage N°9 (100)	15	87%	1 Mh	7%	0%	7%
Elevage N°10 (36)	15	100%	0	nt	nt	nt
				* Douteux comptabilisés comme NEGATIFS		

Annexe 9 : Séroconversions virales

n° élevage et vaccination	n° PS2	n° PS3	Séroconversion RSV (PS2 à PS3)	Séroconversion PI3 (PS1 à PS3)	Séroconversion BVD (PS2 à PS3)
1 RSV + BVD	9026/14	9079/9	non	non	non
	9026/7	9079/8	non	non	non
	9026/9	9079/7	non	non	non
	9026/10	9079/6	non	non	non
	9026/2	9079/5	non	non	non
	9026/1	9079/4	non	non	non
	9026/4	9079/3	non	non	non
	9026/11	9079/2	oui	non	oui
	9026/6	9079/1	non	oui	oui
		13	oui	non	oui
		15	non	non	oui
		14	non	non	non
		12	non	non	oui
		11	oui	non	non
	9026/13	9079/10	oui	oui	oui
2 RSV	9075/1	2133/12	non	oui	non
	9075/2	2133/11	non	oui	non
	9075/3	2133/3	non	non	non
	9075/4	2133/6	non	non	non
	9075/5	2133/1	non	non	oui
	9075/6	2133/15	non	non	non
	9075/7	2133/8	non	non	oui
	9075/8	2133/13	non	non	non
	9075/9	2133/9	non	non	non
		4	non	non	oui
		10	non	non	non
		7	non	non	oui
		14	non	non	non
		5	non	non	non
	9075/14	2133/2	non	oui	non

3 RSV + BVD	2122/1	9078/10	non	non	non
	2122/2	9078/11	non	non	non
	2122/3	9078/3	oui	oui	oui
	2122/5	9078/15	non	non	non
	2122/6	9078/4	non	non	oui
	2122/7	9078/8	non	non	non
	2122/8	9078/9	non	non	non
	2122/9	9078/6	non	non	oui
	2122/10	9078/7	oui	non	non
		12	non	non	oui
		1	non	non	non
		5	non	non	non
		2	non	non	non
		14	non	non	non
	2122/11	9078/13	non	non	oui

4 RSV + BVD	2125/1	16201/1	non	non	oui
	2125/2	16201/6	non	oui	non
	2125/3	16201/4	non	non	oui
	2125/4	16201/8	non	non	non
	2125/5	16201/15	non	non	non
	2125/6	16201/2	non	non	oui
	2125/7	16201/14	oui	non	non
	2125/8	16201/13	non	non	non
	2125/9	16201/10	non	non	oui
		5	non	oui	oui
		9	non	oui	oui
		12	non	non	oui
		3	oui	non	non
		7	non	non	non
	2125/10	16201/11	non	oui	oui

5 RSV + BVD	2127/1	10791/5	non	non	oui
	2127/2	10791/9	oui	oui	non
	2127/3	10791/8	oui	oui	non
	2127/4	10791/12	non	non	non
	2127/5	10791/7	oui	oui	non
	2127/6	10791/14	non	non	non
	2127/7	10791/3	oui	oui	non
	2127/13	10791/10	non	non	non
	2127/14	10791/13	non	oui	non
		2	oui	oui	oui
		1	non	non	non
		11	oui	oui	oui
		4	non	non	oui
		15	non	non	non
	2127/15	10791/6	non	oui	oui

6 BVD	2130/1	9080/14	non	non	non
	2130/2	9080/13	non	non	non
	2130/3	9080/2	non	non	non
	2130/4	9080/4	non	non	non
	2130/5	9080/10	non	non	non
	2130/7	9080/6	non	non	non
	2130/8	9080/12	non	oui	non
	2130/9	9080/8	non	non	non
	2130/10	9080/3	non	non	non
		1	non	non	non
		7	non	non	non
		9	non	non	non
		5	non	non	non
		mort	mort	mort	mort
	2130/11	9080/11	non	non	non

7 BVD	2131/1	9082/8	non	oui	non
	2131/2	9082/5	non	non	oui
	2131/3	9082/2	non	non	oui
	2131/4	9082/1	oui	non	non
	2131/5	9082/11	non	non	non
	2131/6	9082/13	non	non	non
	2131/7	9082/3	non	non	oui
	2131/8	9082/10	non	non	non
	2131/9	9082/9	non	oui	non
	2131/10	9082/7	non	non	oui
		12	non	non	oui
		4	non	non	oui
		6	non	non	non
		14	non	non	non

8 RSV + BVD	2136/1	16233/4	non	non	oui
	2136/2	16233/1	non	non	non
	2136/3	16233/9	non	oui	non
	2136/4	16233/8	non	oui	non
	2136/5	16233/5	non	non	oui
	2136/6	16233/15	oui	oui	oui
	2136/9	16233/13	non	non	non
	2136/10	16233/2	oui	non	non
	2136/11	16233/10	oui	oui	non
		7	non	non	oui
		3	non	oui	oui
		12	non	non	oui
		14	oui	oui	oui
		6	oui	oui	non
	2136/12	16233/11	non	oui	non

9 RSV + BVD	2138/1	9083/4	non	oui	non
	2138/2	9083/9	non	non	non
	2138/3	9083/15	non	non	non
	2138/4	9083/8	non	non	non
	2138/5	9083/3	non	non	oui
	2138/6	9083/5	non	non	oui
	2138/7	9083/1	non	non	non
	2138/8	9083/14	non	non	oui
	2138/10	9083/6	non	non	oui
		7	non	non	non
		11	non	non	oui
		2	non	non	oui
		13	non	non	non
	2138/15	9083/12	non	non	non

10 RSV + BVD	2140/1	16245/1	non	non	non
		5	non	non	oui
		6	non	non	non
		7	non	non	non
		8	non	non	non
		9	non	non	oui
		10	non	non	oui
		11	non	non	oui
		12	non	non	non
		13	non	oui	non
		14	non	non	non
		15	non	non	non
	2140/2	16245/2	non	non	non
	2140/3	16245/3	non	non	non
	2140/4	16245/4	non	non	non

	Pourcentage d'animaux présentant une séroconversion vis à vis :			
N° de lot	Du RSV	Du Pi 3	Du BVD	De *M. bovis*
1	27	13	40	20
2	0	20	27	40
3	13	7	33	20
4	13	27	53	80
5	40	53	33	0
6	0	7	0	50
7	7	21	43	86
8	33	53	47	33
9	0	7	43	7
10	0	7	27	nt

NOM PRENOM : FICHOT ANTOINE

TITRE : PREVALENCE ET INCIDENCE DE L'INFECTION A *MYCOPLASMA BOVIS* EN PATHOLOGIE RESPIRATOIRE DU VEAU A L'ENGRAISSEMENT. BILAN D'UNE ETUDE DE TERRAIN.

Thèse Vétérinaire : Lyon , *le 21/01/2004.*

RESUME : Dans une première partie bibliographique, après avoir fait un rappel de l'épidémiologie du complexe «broncho-pneumonie infectieuse enzootique» des bovins, cette étude en aborde les étiologies. A ce titre *Mycoplasma bovis* fait l'objet d'une étude spéciale.

La partie expérimentale présente les résultats d'une étude de terrain réalisée sur 10 lots de veaux en engraissement, qui visait à établir la prévalence et l'incidence de *M. bovis* dans cette population. Les analyses ont été réalisées sur prélèvements de sérum et sur liquides de lavages broncho-alvéolaires.

La séroprévalence de l'infection à *Mycoplasma bovis* s'est révélée faible à l'introduction des animaux, mais nous avons mis en évidence une fréquence d'isolement et une incidence élevée lors d'épisodes de pathologie respiratoire.

MOTS CLES :

-BOVIN **-BACTERIE**
-RESPIRATOIRE **-VIRUS**
-MYCOPLASME
-LAVAGE BRONCHO ALVEOLAIRE

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur MORIN
1er Assesseur :	Madame le Docteur LE GRAND
2ème Assesseur :	Madame le Docteur GUERIN

DATE DE SOUTENANCE : 21/01/2004

ADRESSE DE L'AUTEUR :

PRINGUES
71120 BARON